

Przegląd badań aktywności przeciwdrobnoustrojowej ekstraktów i olejków eterycznych z mikołajków

Review on studies on the antimicrobial activity of extracts and essential oils from Eryngium species

Małgorzata Kikowska¹, Jolanta Długaszewska², Barbara Thiem¹

¹ Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

² Katedra i Zakład Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Praca przedstawia zaktualizowany przegląd piśmiennictwa na temat stanu badań aktywności mikrobiologicznej ekstraktów, frakcji i olejków eterycznych z organów roślin z rodzaju *Eryngium*, a także objaśnia, które bioaktywne związki mogą być istotne w tym procesie. Jak dotąd ujawniono wiele aktywnych składników fitochemicznych tych taksonów, a mianowicie saponiny triterpenowe, flawonoidy, kwasy fenolowe, kumaryny i furanokumaryny, olejki eteryczne, seskwiterpeny, poliacetyleny, ekdysteroidy, fitosterole, lignany i betainy. Różne organy tych roślin, szczególnie części nadziemne i korzenie, mają szeroki zakres zastosowań leczniczych w tradycyjnej medycynie ukierunkowanej na wiele dolegliwości. W pracy tej przedstawiono aktywność przeciwdrobnoustrojową gatunków *Eryngium*, które posiadają szeroki zakres działania przeciwko szczepom bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych oraz grzybów, zwłaszcza grzybów drożdżopodobnych. (*Farm Współ* 2020; 13: 206-212)

Słowa kluczowe: aktywność przeciwbakteryjna, aktywność przeciwgrzybicza, ekstrakty, olejki eteryczne, mikołajki

Abstract

This work is an updated literature review on the current state of the research on the antimicrobial activity of extracts, fractions and essential oils as well as explicates which biocompounds are the most relevant in this process. A plethora of active phytochemical constituents of these taxa have been revealed so far, namely triterpenoid saponins, flavonoids, phenolic acids, coumarins and furanocoumarins, the essential oil, sesquiterpenes, polyacetylenes, ecdysteroids, phytosterols, lignans, and betaines. Various organs of these plants, specifically aerial parts and roots, have an immense range of medicinal uses in traditional medicine, targeted at many ailments. In the present review, the antimicrobial activity of *Eryngium* species, which cover a wide range of activities against strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria and fungi, especially yeast, has been described. (*Farm Współ* 2020; 13: 206-212)

Keywords: antibacterial activity, antifungal activity, extracts, essential oils, Sea Holly

Wstęp

Choroby zakaźne są jednymi z wiodących przyczyn schorzeń długo- i krótkoterminowych na całym świecie. Dużym zagrożeniem są mikroorganizmy odporne na antybiotyki, ich zdolność do nabywania i szerzenia się oporności na leki, co prowadzi do wzrostu liczby zgonów ze względu na brak skutecznej opcji terapeutycznej. Oporność na leki przeciwdrobnoustrojowe jest jednym z najpoważniejszych zagrożeń zdrowia publicznego. Dlatego w ciągu ostatnich dwóch

dekad wiele uwagi poświęcono poszukiwaniom naturalnych środków przeciwdrobnoustrojowych w systematycznych naukowych badaniach skryningowych wielu gatunków roślin. Rośliny lecznicze, ich różne organy, są bogatym źródłem potencjalnie biologicznie aktywnych metabolitów wtórnych, w tym wykazujących działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze. Stosowanie ekstraktów roślinnych lub czystych naturalnych związków w połączeniu z konwencjonalnymi lekami przeciwdrobnoustrojowymi może mieć większą

szansę na szybkie zapewnienie skutecznych opcji leczenia. Naturalne produkty są w większości nietoksyczne, nie wywołują działań niepożądanych i dlatego mogą być stosowane jako bezpieczne strategie terapeutyczne. Związki przeciwdrobnoustrojowe pochodzenia roślinnego można podzielić na różne grupy, takie jak fenole, flawonoidy, terpenoidy, lektyny, polipeptydy, poliacytyleny oraz alkaloidy. W świetle dostępnych danych piśmienniczych zastosowanie ekstraktów, frakcji i olejków eterycznych może być odpowiedzią na rosnące zainteresowanie naturalnymi środkami przeciwdrobnoustrojowymi [1-3].

Opisane w niniejszym przeglądzie mikołajki należą do rodzaju *Eryngium*, który jest najliczniejszym taksonem w rodzinie *Apiaceae*, podrodzinnie *Saniculoideae*. Rośliny z tego rodzaju występują prawie na całym świecie. Różne organy mikołajków, szczególnie części nadziemne i korzenie, mają szeroki zakres zastosowań leczniczych w tradycyjnej medycynie ukierunkowanej na wiele dolegliwości. Ponadto, w kilku badaniach wykazano ich aktywność przeciwutleniającą, przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczą, przeciwwirusową, przeciwnowotworową, przeciwzapalną i neuroprotekcijną dzięki obecności związków: saponin triterpenowych pochodnych barygenolu, flawonoidów należących do grup flawonoli, flawanonów oraz flawonów, kwasów fenolowych, kumaryn i furanokumaryn, olejków eterycznych, charakteryzujących się obecnością mono- i seskwiterpenowych węglowodorów, poliacytylenów, ponadto związków z grup ekdysteroidów, fitosteroli, lignanów i betain [4-6].

Aktywność przeciwbakteryjna

Aktywność etanolowych ekstraktów z liści i korzeni trzech krajowych gatunków *Eryngium*: mikołajka płaskolistnego (*E. planum*), mikołajka polnego (*E. campestre*) i mikołajka nadmorskiego (*E. maritimum*) zbadano metodą seryjnych rozcieńczeń w bulionie przeciwko bakteriom Gram-dodatnim *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*. Ekstrakty etanolowe z *Eryngium* wykazywały umiarkowaną aktywność wobec *S. aureus* (najniższa wartość MIC = 400 µg/ml dla ekstraktu etanolowego z liści *E. planum*) i słabe działanie przeciwko *B. subtilis* (najniższa wartość MIC = 1300 µg/ml dla ekstraktu etanolowego z korzeni *E. maritimum*) [7]. W nowszym badaniu oceniono działanie przeciwbakteryjne ekstraktów metanolowych i frakcji z liści i korzeni *E. planum*, *E. campestre* i *E. maritimum* w odniesieniu do *Staphylococcus aureus*

i *Pseudomonas aeruginosa*. Wyniki badań wykazały, że ekstrakty i frakcje posiadały różny stopień aktywności przeciwbakteryjnej, w zależności od gatunku *Eryngium*, badanej biomasy i szczepu bakterii. Frakcja saponinowo-fenolokwasowa *E. maritimum* i *E. planum* oraz frakcja saponinowa *E. planum* charakteryzowały się najsilniejszym działaniem przeciwbakteryjnym (MIC = 1–2 mg/ml) wobec *S. aureus* [8].

Aktywność przeciwbakteryjna nalewek z części nadziemnej *E. planum*, *E. campestre* i *E. maritimum* w stężeniu 50 µl/10 mg została udowodniona przez Conea i zespół za pomocą metody dyfuzji z krążka w podłożu agarowym. Nalewki ze wszystkich badanych gatunków były najbardziej aktywne przeciwko *Pseudomonas aeruginosa*: *E. planum* (20 ± 1,0 mm), *E. campestre* (25 ± 1,5 mm) i *E. maritimum* (20 ± 1,6 mm), w mniejszym stopniu wobec *S. aureus* (15 ± 0,45 mm) i *S. epidermidis* (15 ± 0,30 mm). Niestety, nie wykazano działania przeciwdrobnoustrojowego w stosunku do *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* i *Salmonella enteritidis*. W badanych ekstraktach wykazano obecność kwasów fenolowych, głównie kwasu ferulowego, kawowego, chlorogenowego, synapinowego oraz flawonoidów, w tym takich jak rutozyd, kemferol, kwercytryna i izokwercetyna [9].

W innych badaniach aktywność frakcji polarnych i niepolarnych ekstraktu z liści mikołajka nadmorskiego (*E. maritimum*) przeciwko bakteriom Gram-dodatnim: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, *Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes* i *Bacillus cereus*, a także bakteriom Gram-ujemnym: *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* i *Salmonella enterica* subsp. *montevideo*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas marginalis*, *Escherichia coli* i *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* została zbadana przy użyciu metody mikrorozcieńczeń. Najbardziej wrażliwymi drobnoustrojami były *P. aeruginosa* i *P. fluorescences* (frakcja polarna MIC = 1 µg/ml; frakcja niepolarna MIC = 2 µg/ml) [10]. Natomiast w badaniu innych autorów, etanolowe i wodne ekstrakty z części nadziemnych *E. maritimum*, badane z zastosowaniem metody rozcieńczeń w podłożu agarowym, wykazywały aktywność przeciwko pięciu gatunkom bakterii: *Propionibacterium acnes* (obecnie *Cutibacterium acnes*) i paciorkowcom *Streptococcus bovis*, *S. pyogenes*, *S. dysgalactiae* i *S. pneumoniae* [11]. W kolejnym badaniu możliwości działania przeciwbakteryjnego *E. maritimum*, analizowano

olejki eteryczne z owoców i liści rozetkowych tego gatunku. Aktywność olejków eterycznych oceniono metodą mikrorozcieńczeń w bulionie. Oba olejki były najbardziej aktywne przeciwko *Trichophyton mentagrophytes* (MIC = $1,56 \pm 0,0$ mg/ml i $7,5 \pm 0,0$ mg/ml, odpowiednio) i *S. aureus* (MIC = $12,5 \pm 0,0$ mg/ml i $60 \pm 0,0$ mg/ml, odpowiednio). Olejek eteryczny z liści rozetkowych wykazywał również umiarkowaną aktywność wobec *E. coli* (MIC = $25 \pm 0,0$ mg/ml). Jak wynikało z analiz fitochemicznych dominującymi składnikami był gerkakren D (45,2%) w owocach oraz 2,3,4-trimetylobenzaldehyd (11,3%) i gerkakren D (10,5%) w liściach, znane z piśmiennictwa jako związki przeciwdrobnoustrojowe [12].

Ekstrakty metanolowe z kwiatów i liści mikołajka polnego (*E. campestre*), zostały ocenione w badaniu przesiewowym razem z 15 innymi gatunkami, stosowanymi w tureckiej medycynie tradycyjnej, pod kątem właściwości przeciwbakteryjnych. Zespół Moghaddama zastosował metody dyfuzyjno-krążkową i mikrorozcieńczeń. Pośród czterech gatunków bakteryjnych – *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Escherichia coli*, ekstrakty *E. campestre* wykazały aktywność przeciwbakteryjną wobec bakterii Gram-dodatnich. Ekstrakty z kwiatów (średnica strefy zahamowania wzrostu 10 mm) i liści (średnica strefy zahamowania wzrostu 8 mm) wykazywały aktywność przeciwko *S. aureus* przy zastosowaniu metody dyfuzyjno-krążkowej. Natomiast wartość MIC, wyznaczona metodą mikrorozcieńczeń, wynosiła odpowiednio 125 µg/ml i 250 µg/ml dla ekstraktów z kwiatów i liści [13]. Aktywność przeciwdrobnoustrojową olejku eterycznego z części nadziemnej *E. campestre* oceniono w stosunku do 12 gatunków bakterii za pomocą metody dyfuzji z krążka i rozcieńczeń. W rezultacie badanie *in vitro* wykazało silną aktywność przeciwko Gram-dodatnim bakteriom *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* i *Enterococcus faecalis*, przy największych strefach hamowania ich wzrostu od 20 do 35 mm i MIC = 2 µg/ml dla wszystkich badanych próbek. Olejek eteryczny *E. campestre* nie był aktywny wobec Gram-ujemnych bakterii: *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Salmonella* Enteritidis, *E. coli* i *K. pneumoniae*. Głównymi związkami wykazanymi w olejku z zastosowaniem metod GC-FID i GC/MS były gerkakren D, gerkakren B, myrcen i α-kadinol [14].

W badaniu Ndipa najlepszy efekt ekstraktów z kolendry meksykańskiej (*E. foetidum*) zaobserwowano w odniesieniu do rodzaju *Erwinia*, jednak po

poddaniu próbek testom *in vitro* przeciwko klinicznym szczepom Gram-ujemnej bakterii *Helicobacter* spp., ekstrakty metanolowe w stężeniu 25 µg/ml wykazywały słabą aktywność (uzyskano wartości strefy zahamowania wzrostu do 16 mm) [15]. Zespół Mabeku prowadził ocenę aktywności ekstraktu metanolowego *E. foetidum* metodą rozcieńczeń w bulionie wobec sześciu klinicznych szczepów *Helicobacter pylori*. Dla tego ekstraktu najniższe wartości MIC wyniosły 64 µg/ml i MBC/MIC = 1. Analizy fitochemiczne wykazały obecność w badanych ekstraktach alkaloidów, flawonoidów, fenoli, antrachinonów i związków steroidowych [16].

Aktywność ekstraktów metanolowego i chloroformowego z nadziemnej części i korzeni mikołajka dłoniastego (*E. palmatum*), badana metodą mikrorozcieńczeń w bulionie wobec szczepów bakteryjnych należących do ośmiu gatunków, przedstawiała się w zakresie wartości MIC między 3,5 a 15,6 µg/ml. Wykazano znaczącą aktywność ekstraktu metanolowego z nadziemnej części rośliny przeciwko *Micrococcus luteus*. Najbardziej wrażliwym drobnoustrojem, oprócz *M. luteus*, była również bakteria Gram-dodatnia *Staphylococcus epidermidis* (MIC = 7,8 µg/ml dla ekstraktów metanolowych z nadziemnej części i korzeni, a także ekstraktu chloroformowego z korzeni). Bakterie Gram-ujemne: *P. aeruginosa*, *E. coli* i *K. pneumoniae* były mniej wrażliwe na badane ekstrakty [17].

Ekstrakt metanolowy z części nadziemnej *E. caeruleum* badano pod kątem aktywności przeciwko *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa*. Zastosowano metodę rozcieńczeń w podłożu agarowym. Sugerowano, że wszystkie frakcje ekstraktu metanolowego były aktywne wobec badanych drobnoustrojów, ale frakcje chloroformowa i octanu etylu wykazywały największe działanie. Ekstrakt metanolowy był najbardziej aktywny przeciwko *E. faecalis* (MIC = $309,43 \pm 2,08$ µg/ml), *P. mirabilis* (MIC = $380,34 \pm 4,17$ µg/ml) i *E. coli* (MIC = $326,33 \pm 7,12$ µg/ml), oraz frakcja octanu etylu wobec *S. typhi* (MIC = $556,32 \pm 3,66$ µg/ml) i *P. aeruginosa* (MIC = $373,29 \pm 6,371$ µg/ml). Wartości te były stosunkowo wysokie w porównaniu do tych uzyskanych dla związku referencyjnego – ceftriaksonu, będącego cefalosporyną III generacji o działaniu przeciwbakteryjnym, gdzie wartości MIC mieściły się w zakresie od $0,503 \pm 0,317$ µg/ml do $3,867 \pm 0,384$ µg/ml [18].

Aktywność przeciwbakteryjną olejku eterycznego z *E. triquetrum* oceniano przeciwko pięciu gatunkom

bakterii Gram-dodatnich i trzem Gram-ujemnych. Olejek bogaty w falkarinol wykazywał umiarkowaną aktywność w stosunku do *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa* ze średnicami hamowania odpowiednio 18 mm i 22 mm w metodzie dyfuzji w podłożu agarowym. Dla gentamycyny, zastosowanej w badaniach jako związek referencyjny, uzyskano średnicę zahamowania wzrostu odpowiednio 10 mm i 21 mm. Wartość MIC olejków eterycznych w stosunku do badanych bakterii wynosiła 125 µg/ml [19].

Aktywność mikołajka kretańskiego (*E. creticum*) badano w stosunku do *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus vulgaris* i *Pseudomonas aeruginosa* metodą dyfuzyjno-krążkową. Ekstrakt wodny (średnica zahamowania wzrostu – 7,0 mm) wykazywał silniejsze działanie przeciwko *K. pneumoniae* niż ekstrakt etanolowy (średnica zahamowania wzrostu 6,0 mm), podczas gdy ekstrakt etanolowy (średnica zahamowania wzrostu 8,0 mm) okazał się najbardziej aktywny wobec *P. vulgaris*. Nie zaobserwowano różnic między działaniem wyciągów wodnych i etanolowych przeciwko *S. aureus*, *E. coli* i *P. aeruginosa* (średnice zahamowania wzrostu odpowiednio – 9,1 mm, 6,0 mm i 6,0 mm) [20]. Aktywność wybranych ekstraktów z liści i łodyg *E. creticum* w stosunku do *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* i *E. faecalis* zmierzono również metodą mikrorozcieńczeń w bulionie. Wodne ekstrakty silniej hamowały wzrost zarówno bakterii Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych, niż ekstrakty etanolowe. Ogólnie, bakterie Gram-dodatnie były bardziej wrażliwe na badane ekstrakty (MIC = MBC = 5,0 mg/ml) niż bakterie Gram-ujemne [21].

Aktywność przeciwbakteryjna metanolowych ekstraktów z kwiatów, liści, łodyg i korzeni mikołajka serbskiego (*E. serbicum*) badana była w stosunku do sześciu gatunków bakterii Gram-dodatnich (*Bacillus mycoides*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) oraz trzech Gram-ujemnych (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Zaobserwowane wartości MIC dla wszystkich badanych ekstraktów metanolowych mieściły się w zakresie od 15,6 µg/ml do 250 µg/ml i były wyższe od wartości uzyskanych dla standardowego antybiotyku – streptomycyny. Badane ekstrakty wykazały znaczącą aktywność w stosunku do bakterii Gram-dodatnich (zakres wartości MIC od 15,6 µg/ml do 125 µg/ml), z wyjątkiem

ekstraktu z łodygi wobec *E. faecalis* i *S. epidermidis* (MIC = 250 µg/ml) oraz Gram-ujemnych z wyjątkiem ekstraktu z liści i łodygi wobec *E. coli*, oraz z łodyg wobec *P. aeruginosa* (wartości MIC = 250 µg/ml). Ekstrakt z kwiatów wykazał znaczącą aktywność w stosunku do *M. luteus*, *M. lysodeikticus* i *S. epidermidis* (MIC = 15,6 µg/ml). Również w tym samym stężeniu ekstrakt z liści hamował wzrost *M. lysodeikticus*, a ekstrakt z korzenia wzrost *B. mycoides* i *K. pneumoniae*. Wartości MIC wszystkich badanych ekstraktów uzyskane dla *E. coli* były wyższe lub równe 125 µg/ml. Z drugiej strony, ekstrakt uzyskany z kwiatów wykazał najwyższą aktywność wobec bakterii Gram-dodatnich. Można to przypisać dużej ilości kwasu chlorogenowego i rozmarynowego. Również ze względu na obecność znaczących stężeń kwasu rozmarynowego, ekstrakt z korzenia wykazywał wysoką aktywność przeciwko bakteriom Gram-dodatnim. Wcześniejsze doniesienia literaturowe ujawniają, że te dwa kwasy fenolowe działają poprzez wpływ na błonę plazmatyczną bakterii – jej przepuszczalność i przerwanie, co powoduje uwolnienie makrocząsteczek cytoplazmatycznych i śmierć komórek bakteryjnych [22].

Dodatkowo, aktywność olejku eterycznego z *E. campestre*, *E. creticum* i *E. thoriifolium* oceniono metodą dyfuzji krążkowej, stosując panel dziewięciu klinicznych izolatów *Staphylococcus aureus* opornych na metycylinę. Aktywność przeciwbakteryjna olejków była znacznie niższa niż wankomycyny (strefy zahamowania wzrostu o średnicach odpowiednio od 0 do 10/11 ± 1 mm oraz od 15 ± 1 do 16 ± 1 mm) dla *E. campestre* i *E. creticum*, oraz porównywalna lub równa dla *E. thoriifolium* (strefy zahamowania wzrostu o średnicach od 13 ± 1 mm do 19 ± 0 mm) [23].

Aktywność przeciwgrzybicza

Aktywność ekstraktów etanolowych z liści i korzeni trzech gatunków *Eryngium*: mikołajka płaskolistnego (*E. planum*), mikołajka polnego (*E. campestre*) i mikołajka nadmorskiego (*E. maritimum*) badano metodą seryjnych rozcieńczeń w bulionie, przeciwko grzybom drożdżopodobnym – *Candida albicans* i *C. glabrata*, *Cryptococcus neoformans*, grzybom strzępkowym – *Aspergillus niger* i dermatofitom – *Trichophyton mentagrophytes*. Najlepszy efekt badanych ekstraktów uzyskano przeciwko *C. albicans* i *C. glabrata*, *T. mentagrophytes* i *C. neoformans*. Najniższe wartości MIC wykazane zostały wobec *C. albicans* i *C. glabrata* dla ekstraktu etanolowego z liści *E. planum* (90 µg/ml

oraz 40 µg/ml), *C. neoformans* dla ekstraktu z liści *E. campestre*, *T. mentagrophytes* dla ekstraktu z liści *E. planum* i korzeni *E. maritimum* oraz *A. niger* dla ekstraktu z korzeni *E. planum* (100 µg/ml) [7]. Aktywność przeciwgrzybiczą ekstraktów metanolowych i frakcji z liści i korzeni *E. planum*, *E. campestre* i *E. maritimum* oceniono w stosunku do *C. albicans* i *A. niger*, z zastosowaniem metody seryjnych rozcieńczeń w bulionie. Ekstrakty metanolowe z korzeni wszystkich badanych gatunków (MIC = 12,5 mg/ml) i hodowla zawieszinowa komórek *E. planum* (MIC = 7,8 mg/ml) hamowały wzrost *C. albicans* [8].

Potencjał hamujący ekstraktu metanolowego, frakcji polarnej i niepolarnej z liści mikołajka nadmorskiego (*E. maritimum*) na wzrost *Candida albicans* został przetestowany przez Meot-Duros i współpracowników metodą seryjnych rozcieńczeń. Jedynie frakcja polarna wykazywała aktywność przeciwgrzybiczą. Wartość MIC wynosiła 100 µg/ml [10]. Aktywność metanolowych i acetonowych ekstraktów oraz frakcji butanolowej i octanu butanolu z korzenia *E. maritimum* badano w stosunku do *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternate*, *Aspergillus fumigatus* i *Aspergillus flavus* metodą dyfuzji krążkowej. Największa aktywność przeciwgrzybicza wobec *A. alternate* i *A. flavus* została wykazana dla frakcji octanu etylu (w stężeniu 50 mg/ml) a wartość średnicy strefy zahamowania wzrostu wynosiła odpowiednio 8,83 mm i 10 mm, natomiast wobec *A. fumigatus* dla frakcji butanolowej (w stężeniu 50 mg/ml) – 10 mm oraz *C. herbarum* dla ekstraktu metanolowego (w stężeniu 50 mg/ml) – 9,33 mm [24]. W kolejnym badaniu możliwości działania przeciwgrzybiczego *E. maritimum* analizowano olejki eteryczne z owoców i liści rozetkowych tego gatunku. Aktywność olejków eterycznych oceniono metodą mikrorozcieńczeń w bulionie. Olejek eteryczny z liści rozetkowych wykazywał również umiarkowaną aktywność przeciwko *Candida albicans* (MIC = 12,5 ± 0,0 mg/ml). Jak wynikało z analiz fitochemicznych dominującymi składnikami w liściach rozetkowych były 2,3,4-trimetylobenzaldehyd (11,3%) i germakren D (10,5%), znane z piśmiennictwa jako związki przeciwdrobnoustrojowe [12].

Ekstrakty etanolowe z kwiatów i liści mikołajka polnego, podobnie jak innych 15 roślin stosowanych w tureckiej medycynie ludowej, zostały zbadane pod kątem działania przeciwgrzybiczego w stosunku do *Candida albicans*, z wykorzystaniem testu opartego o dyfuzję ekstraktu w agarze. Ekstrakty nie wykazały

żadnej aktywności hamującej [13]. W drugim badaniu olejek eteryczny otrzymany przez hydrodestylację nadziemnych części *E. campestre* także nie wykazywał aktywności w stosunku do *C. albicans*, ponieważ średnice hamowania nie przekraczały 6 mm przy zastosowaniu metody dyfuzyjno-krążkowej. Głównymi związkami wykazanymi w olejku określonymi z zastosowaniem metod GC-FID i GC/MS były germakren D, germakren B, myrcen i α-kadinol [14].

Badanie aktywności przeciwgrzybiczej ekstraktów metanolowych i chloroformowych z części nadziemnej i korzeni mikołajka dłoniastego (*E. palmatum*) przy użyciu metody rozcieńczeń w bulionie wykazało zahamowanie wzrostu *Candida albicans*. Najniższe stężenie ekstraktów hamujących wzrost tego drobnoustroju hodowanego w temperaturze 26°C przez 48 godz. wynosiło 7,8 µg/ml, co było wartością wyższą niż w przypadku działania związku referencyjnego – nystatyny (3,1 µg/ml). Autorzy upatrują związek pomiędzy działaniem przeciwgrzybiczym a zawartością flawonoidów, szczególnie glikozydów apigeniny i kemferolu [17].

Frakcja heksanowa, chloroformowa, octanu etylu i wodna ekstraktu metanolowego (10 mg/ml) z części nadziemnej mikołajka błękitnego przebadane zostały pod kątem aktywności przeciwko kropidlakom: *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* i *A. niger*, stosując metodę rozcieńczeń. Po okresie 24 godz. inkubacji w 37°C, frakcja chloroformowa ekstraktu metanolowego *E. caeruleum* wykazywała największą aktywność w stosunku do *A. flavus* (MFC = 233,45 ± 6,44 µg/ml) i *A. niger* (MFC = 250,64 ± 4,76 µg/ml), a ekstrakt metanolowy przeciwko *A. fumigatus* (MFC = 321,43 ± 2,43 µg/ml). Wartości te były wyższe niż dla związku referencyjnego – nystatyny, stosowanej w leczeniu zakażeń grzybiczych [18].

Wodne ekstrakty 22 gatunków palestyńskich roślin stosowanych w medycynie tradycyjnej, w tym mikołajka kretańskiego, w badaniu przesiewowym przeprowadzonym z użyciem metody seryjnych rozcieńczeń w agarze, hamowały wzrost kolonii trzech gatunków dermatofitów: *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes* i *Trichophyton violaceum*. Niemniej jednak, działanie hamujące ekstraktów z części nadziemnych *E. creticum* (15 µg/ml) było umiarkowane lub niskie, a wartość współczynnika hamowania wzrostu grzybni wahała się od około 12,4 ± 4,26% dla *M. canis* do 56,6 ± 7,41% dla *T. mentagrophytes* po 7 dniach inkubacji w temperaturze 25°C

w porównaniu do kontroli. Dla gryzeofulwiny, leku stosowanego w infekcjach grzybiczych skóry, paznokci i włosów, w niniejszym doświadczeniu wartość ta wynosiła 100% w przypadku wszystkich gatunków grzybów [25]. Ponadto, próbki otrzymane w wyniku ekstrakcji eterem naftowym lub metanolem świeżych liści *E. creticum* oceniono w stosunku do chorobotwórczych dla roślin grzybów: gronowca szarego (*Botrytis cinerea*), *Alternaria solani*, pędzłaka (*Penicillium* spp.), *Cladosporium* spp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae* i *Phytophthora infestans*. Aktywność fungistyczną oceniono na podstawie inhibicji wzrostu liniowego grzybów poprzez zaszczepienie agarowych pożywek suplementowanych i niesuplementowanych (kontrola) ekstraktami roślinnymi 5 mm krążkami podłoża przerośniętymi kolonią badanego grzyba. Po siedmiodniowej inkubacji w ciemności, w temperaturze 22°C mierzona była średnica grzybni. Natomiast testy hamowania rozwoju zarodników, pobranych z aktywnie rosnących kolonii, wykonywane były po umieszczeniu ich na podłożach agarowych z dodatkiem ekstraktów roślinnych i podłożach bez ekstraktów. Płytki inkubowano w temperaturze 22°C do czasu aż germinacja w kontroli osiągnęła ponad 70%. Procentowy współczynnik hamowania wzrostu grzybni wahał się od 10 do 17% dla ekstraktów eterowych i od 3 do 32% dla ekstraktów metanolowych. Współczynnik hamowania rozwoju zarodników wynosił od 33 do 98% dla ekstraktów eterowych i od 3 do 75% dla ekstraktów metanolowych, w zależności od badanego gatunku grzyba. W przypadku dwóch grzybów, mianowicie *B. cinerea* i *F. oxysporum* f. sp. *melonis* ekstrakty zahamowały rozwój > 95% zarodników. Główne związki scharakteryzowane w ekstraktach,

według autorów, odpowiedzialne za ich aktywność to β -bisabolen, tlenek kariofilenu, spatulenol i L-mentol [26].

Podsumowanie

Niniejszy artykuł wskazuje, że ekstrakty i olejki eteryczne uzyskane z różnych gatunków *Eryngium* posiadają szeroki zakres działania przeciwdrobnoustrojowego przeciwko szczepom bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych oraz grzybów, zwłaszcza grzybów drożdżopodobnych. Zarówno ekstrakty, jak i olejki eteryczne są źródłem substancji aktywnych, które w różnym stopniu hamują wzrost i rozwój szczepów bakterii oraz grzybów. Badania wskazują, że aktywności te można przypisać obecności różnych związków charakterystycznych dla rodzaju *Eryngium*, zwłaszcza tych niepolarnych. W zależności od formy użytych ekstraktów czy frakcji oraz testowanych surowców, gatunki mikołajków charakteryzują się one zróżnicowanym wpływem na hamowanie wzrostu drobnoustrojów.

Konflikt interesów / Conflict of interest

Brak/None

Adres do korespondencji / Correspondence address

✉ Małgorzata Kikowska
Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej
i Biotechnologii Roślin
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
w Poznaniu
ul. Św. Marii Magdaleny 14; 61-861 Poznań
☎ (+48 61) 668 78 50
✉ kikowska@ump.edu.pl

Piśmiennictwo/References

1. Cheesman MJ, Ilanko A, Blonk B, et al. Developing New Antimicrobial Therapies: Are Synergistic Combinations of Plant Extracts/Compounds with Conventional Antibiotics the Solution? *Pharmacogn Rev.* 2017;11(22):57-72.
2. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12(4):564-82.
3. Aljamali NM. Study effect of medical plant extracts in comparison with antibiotic against bacteria. *J Sci Innov Res.* 2013;2(5):843-5.
4. Erdem SA, Nabavi SF, Orhan IE, et al. Blessings in disguise: a review of phytochemical composition and antimicrobial activity of plants belonging to the genus *Eryngium*. *DARU* 2015;23:1-22.
5. Wang P, Su Z, Yuan W, et al. Phytochemical constituents and pharmacological activities of *Eryngium* L. (Apiaceae). *Pharm Crops.* 2012;3: 99-120.
6. Kikowska M, Thiem B. *In Vitro* Systems of Selected *Eryngium* Species (*E. planum*, *E. campestre*, *E. maritimum*, and *E. alpinum*) for Studying Production of Desired Secondary Metabolites (Phenolic Acids, Flavonoids, Triterpenoid Saponins, and Essential Oil). W: Kishan Gopal Ramawat, Halina Maria Ekiert, Shaily Goyal. *Plant Cell and Tissue Differentiation and Secondary Metabolites. Fundamentals and applications.* Cham: Springer, 2020; pp.1-33.

7. Thiem B, Goślińska O, Kikowska M, et al. Antimicrobial activity of three *Eryngium* L. species (Apiaceae). *Herba Pol.* 2010;56(4):52-9.
8. Kikowska M, Długaszewska J, Kubicka MM, et al. *In vitro* antimicrobial activity of extracts and their fractions from three *Eryngium* L. species. *Herba Pol.* 2016;62(2):67-77.
9. Conea S, Vlase L, Chirila I. Comparative study on the polyphenols and pectin of three *Eryngium* species and their antimicrobial activity. *Cell Chem Technol.* 2016;50(3-4):473-81.
10. Meot-Duros L, Le Floch G, Magne C. Radical scavenging, antioxidant and antimicrobial activities of halophytic species. *J Ethnopharmacol.* 2008;116(2):258-62.
11. Traversier M, Gaslonde T, Lecso M, et al. Comparison of extraction methods for chemical composition, antibacterial, depigmenting and antioxidant activities of *Eryngium maritimum*. *Int J Cosmet Sci.* 2020(42):127-35.
12. Kikowska M, Kalembe D, Długaszewska J, et al. Chemical composition of essential oils from rare and endangered species – *Eryngium maritimum* L. and *E. alpinum* L. *Plants* 2020; 9(4):417.
13. Moghaddam NS, Eryilmaz M, Altanlar N, et al. Antimicrobial screening of some selected Turkish medicinal plants. *Pak J Pharm Sci.* 2019;32(3):947-51.
14. Medbouhi A, Benbelaid F, Djabou N, et al. Essential oil of Algerian *Eryngium campestre*: chemical variability and evaluation of biological activities. *Molecules.* 2019;24(14):2575.
15. Ndip RN, Tasking AEM, Mbulah SM, et al. *In vitro* anti-*Helicobacter pylori* activity of extracts of selected medicinal plants from North West Cameroon. *J Ethnopharmacol.* 2007;114:452-7.
16. Mabeku LBK, Bille BE, Nguelpi E. *In vitro* and *in vivo* anti-*Helicobacter* activities of *Eryngium foetidum* (Apiaceae), *Bidens pilosa* (Asteraceae), and *Galinsoga ciliata* (Asteraceae) against *Helicobacter pylori*. *Biomed Res Int.* 2016;2171032.
17. Marčetić MD, Petrović SD, Milenković MT, et al. Composition, antimicrobial and antioxidant activity of the extracts of *Eryngium palmatum* Pančić and Vis. (Apiaceae). *Cent Eur J Biol.* 2014;9(2):149-55.
18. Sadiq A, Ahmad S, Ali R, et al. Antibacterial and antifungal potentials of the solvents extracts from *Eryngium caeruleum*, *Notholirion thomsonianum* and *Allium consanguineum*. *BMC Complem Altern M* 2016;16:478.
19. Medbouhi A, Merad N, Khadir A, et al. Chemical composition and biological investigations of *Eryngium triquetrum* essential oil from Algeria. *Chem Biodivers.* 2018;15(1):e1700343.
20. Ali-Shtayeh MS, Yaghmour RMR, Faidi YR, et al. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J Ethnopharmacol.* 1998;60:265-71.
21. Makki R, Dirani ZE, Rammal H, et al. Antibacterial activity of two Lebanese plants: *Eryngium creticum* and *Centranthus longiflorus*. *J Nanomed Nanotechnol.* 2015;6(5):2157-7439.
22. Vukic MD, Vukovica NL, Djelic GT, et al. Phytochemical analysis, antioxidant, antibacterial and cytotoxic activity of different plant organs of *Eryngium serbicum* L. *Ind Crops Prod* 2018;115:88-97.
23. Celik A, Ayddinlik N, Arslan I. Phytochemical constituents and inhibitory activity towards methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains of *Eryngium* species (Apiaceae) *Chem Biodivers.* 2011;8:454-9.
24. Kholkhal W, Ilias F, Bekhechi C, et al. *Eryngium maritimum*: a rich medicinal plant of polyphenols and flavonoids compounds with antioxidant, antibacterial and antifungal activities. *Curr Res J Biol Sci.* 2012;4(4):437-43.
25. Ali-Shtayeh MS, Abu Ghdeib SI. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses,* 1999;42:665-72.
26. Abou-Jawdah Y, Sobh H, Salameh A. Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi. *J Agric Food Chem.* 2002;50:3208-13.