

Działanie terpenów roślinnych na drobnoustroje

Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu
Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. Grzegorz Sychalski

THE MICROBIOLOGICAL ACTIVITY OF PLANT TERPENES

SUMMARY

The studies included the activity on bacteria and yeast fungi of 32 acyclic, monocyclic and dicyclic monoterpenes sesquiterpenes, diterpenes and triterpenes of plant origin.

It was stated that on such human pathogenic microbes like: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* the strong activity showed acyclic monoterpenes – geraniol and citronelol, monocyclic monoterpene – menthol, dicyclic monoterpenes – camphen, borneol, camphor and thujon and acyclic sesquiterpenes – β -caryophyllen, α -bisabolol and chamazulen. Their inhibited the growth of investigated microorganisms in the concentration limits 75-750 $\mu\text{g/ml}$. The above studies are the possibility of use of mentioned plant terpenes in the medical practice.

KEY WORDS: PLANT TERPENES – ACTIVITY ON BACTERIA AND YEAST FUNGI

praktyce medycznej. W opracowaniu wykorzystane zostały wyniki badań własnych wykonanych w latach 1976-2010.

Materiał i metody

Badane substancje

W badaniach użyto 32 terpenów, które pochodziły z następujących firm: Aldrich – geraniol, octan geranylu, citronelal, cytral, limonen, mentol, p-cymen, α -terpineol, α -pinen, β -pinen, kamfen, borneol, izoborneol, kamfora, fenchon, farnesol, farnesal; Drago – linalol, octan bornyłu; Riedel – citronelol; Sigma – β -myrcen; Fluka – 1,8-cyneol, α -felandren; Phytolab – chamazulen i Roth – β -kariofyllen, kwas abietynowy, kwas β -ursolowy, kwas oleanolowy, hederasaponina, prymulina (chlorek), tujon, α -bisabolol.

Drobnoustroje

W badaniach wykorzystano szczepy wzorcowe z następujących kolekcji mikrobiologicznych: ATCC (*American Type Culture Collection*), CNCTC (*Czechoslovak National Collection of Type Cultures*) oraz PZH (Państwowy Zakład Higieny). Poza tym w badaniach użyto szczepy drobnoustrojów wyizolowane z materiału szpitalnego (S) oraz z produktów żywnościowych (P).

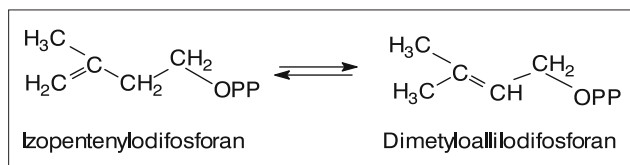
Określanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej

Badane terpeny rozpuszczano w DMSO (firmy Serva) w stężeniu 100 mg/ml i sporządzano z nich rozcieńczenia w podłożach płynnych dla bakterii – Antibiotic Broth i dla grzybów Sabouraud Broth (oba podłoża firmy Merck). Oznaczenia prowadzono w granicach stężeń 1-1500 $\mu\text{g/ml}$. Do poszczególnych rozcieńczeń badanych terpenów o objętości 1 ml dodawano po 0,1 ml 24-48 godz. hodowli bakterii lub grzybów drożdżoidalnych. Inokulum badanych drobnoustrojów mieściło się w granicach 10^5 - 10^6 komórek w 1 ml. Próbkę inkubowano przez 24-48 godz. w temp. 37°C (bakterie i grzyby drożdżoidalne chorobotwórcze dla człowieka) oraz w temp. 25°C (grzyby drożdżoidalne izolowane z produktów żywnościowych). Następnie określano najmniejsze stężenie hamujące

Wstęp

Nazwą terpenów (izoprenoidów) określa się dużą grupę substancji naturalnych, które są pochodnymi tzw. aktywnego izoprenu – izopentenyloldifosforanu lub jego izomeru dimetyloallilodifosforanu (ryc. 1). Wymienione związki przez połączenie w dwie lub więcej jednostek tworzą cząsteczki, w których liczba atomów węgla jest podzielna przez 5, a mianowicie: monoterpeny (C_{10}), seskwiterpeny (C_{15}), diterpeny (C_{20}) i triterpeny (C_{30}). Z kolei wśród monoterpenów wyróżniamy związki acykliczne, monocykliczne i dicykliczne (1).

Celem pracy była ocena działania przeciwdrobnoustrojowego terpenów roślinnych z punktu widzenia poznawczego oraz ewentualnego zastosowania w



Ryc. 1. Terpeny (izopreny) jako pochodne aktywnego izoprenu i jego izomeru (wg 1).

(MIC – *Minimal Inhibitory Concentration*) badanych terpenów.

Wyniki

Wyniki badań dotyczące monoterpenów acyklicznych (tab. 1 i 2) oraz monocyklicznych (tab. 3 i 4)

wskazują, że najsilniej na bakterie i grzyby drożdżoidalne chorobotwórcze dla człowieka, takie jak *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Candida albicans*, działają geraniol, cytronelol i mentol. Hamowały one wzrost tych drobnoustrojów w granicach stężeń 75-750 µg/ml.

Tabela 1. Działanie monoterpenów acyklicznych na bakterie i grzyby drożdżoidalne (wg 2-4).

| Drobnoustroje | MIC (µg/ml) | | | | |
|--|-------------|-------------|------------|----------------|-------------|
| | β-myrcen | linalol | geraniol | octan geranylu | cytronelal |
| Bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P <i>Escherichia coli</i> PZH 026B6 | 750 1000 | 500 1000 | 100 750 | 100 1000 | 350 1250 |
| Grzyby drożdżoidalne <i>Candida albicans</i> PZH 1409 PCM | 600 | 400 | 300 | 300 | 200 |

Tabela 2. Działanie monoterpenów acyklicznych na bakterie i grzyby drożdżoidalne (wg 2-5).

| Drobnoustroje | MIC (µg/ml) | |
|---|---------------------------------|--------------------------------|
| | cytronelol | cytral |
| Bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P <i>Escherichia coli</i> PZH 026B6 | 75 750 | 350 1250 |
| Grzyby drożdżoidalne <i>Candida albicans</i> PZH 1409 PCM <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CNCTC 53/67 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Ja-64 (P) <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> (P) <i>Torulopsis utilis</i> CNCTC 32/49 | 200 100 100 100 100 | 500 100 10 100 100 |

Tabela 3. Działanie monoterpenów monocyklicznych na bakterie i grzyby drożdżoidalne (wg 2-4).

| Drobnoustroje | MIC (µg/ml) | | |
|--|-------------|------------|-------------|
| | limonen | mentol | 1,8-cyneol |
| Bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P <i>Escherichia coli</i> PZH 026B6 | 500 1000 | 300 750 | 750 1000 |
| Grzyby drożdżoidalne <i>Candida albicans</i> PZH 1409 PCM | 300 | 300 | 750 |

Tabela 4. Działanie monoterpenów monocyklicznych na bakterie i grzyby drożdżoidalne (wg 2-5).

| Drobnoustroje | MIC (µg/ml) | | |
|---|-------------|-------------|-------------|
| | p-cymen | α-terpineol | α-felandren |
| Bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P | 500 | 400 | |
| Grzyby drożdżoidalne <i>Candida albicans</i> PZH 1409 PCM <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Ja-64 (P) | 250 100 | 200 | 100 |

W tym samym zakresie stężeń działały na wymienione drobnoustroje chorobotwórcze diterpeny dicykliczne (kamfen, borneol, kamfora i tujon) (tab. 5 i 6) oraz seskwiterpeny (β -kariofyllen, α -bisabolol i chamazulen) (tab. 7).

Natomiast działanie na gronkowce *S. aureus* i grzyby drożdżoidalne *C. albicans* i *S. cerevisiae* badanych diterpenów (kwas abietynowy), triterpenów (kwas β -ursolowy), sapogenin triterpenowych (kwas oleanolowy) oraz saponin triterpenowych (hederasaponina i prymulina) było zróżnicowane (tab. 8).

Wzory chemiczne aktywnych mikrobiologicznie związków terpenowych ilustruje rycina 2.

Wnioski

1. Przeprowadzone badania wskazują, że na drobnoustroje chorobotwórcze dla człowieka (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*) stosunkowo silne działanie wykazują monoterpény acykliczne, monocykliczne i dicykliczne oraz seskwiterpeny.
2. Wśród badanych terpenów silne działanie na drobnoustroje wykazywały: geraniol, cytroneolol, mentol, kamfen, borneol, kamfora, tujon, β -kariofyllen, α -bisabolol i chamazulen. Hamowały one wzrost tych drobnoustrojów w granicach stężeń 75-750 $\mu\text{g/ml}$.

Tabela 5. Działanie monoterpenu dicyklicznego na bakterie i grzyby drożdżoidalne (wg 2-5).

| Drobnoustroje | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | |
|--|--------------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| | α -pinen | β -pinen | kamfen |
| Bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P <i>Escherichia coli</i> PZH 026B6 | 750 1000 | 500 1000 | 200 750 |
| Grzyby drożdżoidalne <i>Candida albicans</i> PZH 1409 PCM <i>Saccharomyces cerevisiae</i> CNCTC 53/67 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Ja-64 (P) <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> (P) <i>Torulopsis utilis</i> CNCTC 32/49 <i>Cryptococcus neoformans</i> 1972 (S) | 250 100 100 100 | 500 100 100 100 | 500 100 10 100 100 100 |

Tabela 6. Działanie monoterpenu dicyklicznego na bakterie i grzyby drożdżoidalne (wg 2-4).

| Drobnoustroje | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | | | |
|--|--------------------------|---------------|------------|------------|------------|---------|
| | borneol | octan bornylu | izoborneol | kamfora | tujon | fenchon |
| Bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P <i>Escherichia coli</i> PZH 026B6 | 200 250 | 200 1000 | 500 | 300 500 | 250 500 | 200 |
| Grzyby drożdżoidalne <i>Candida albicans</i> PZH 1409 PCM | 200 | 250 | | 400 | 250 | |

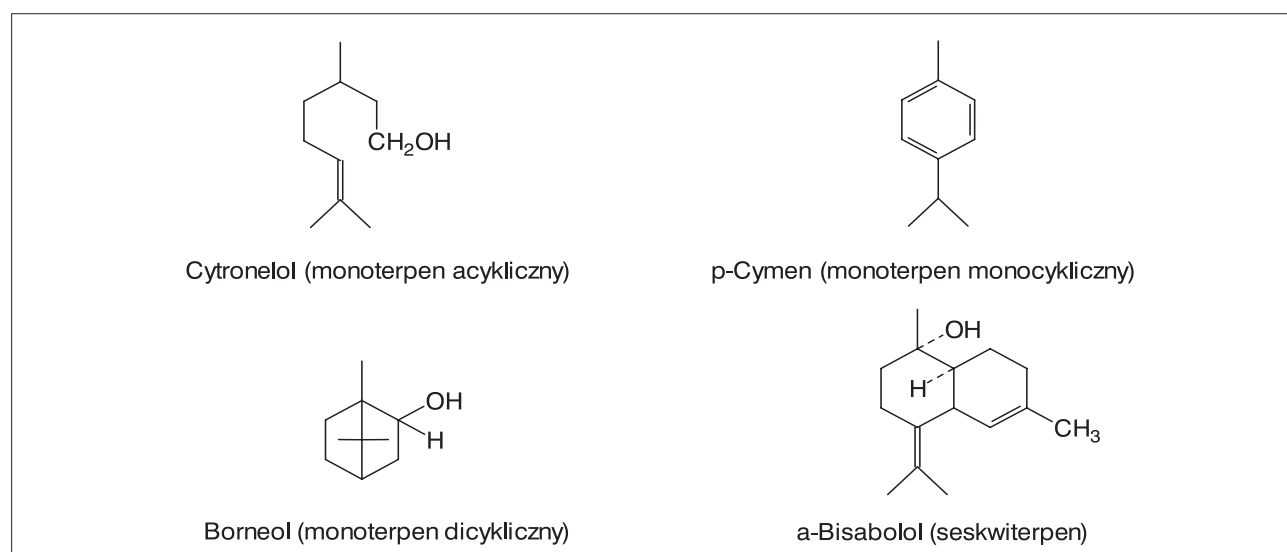
Tabela 7. Działanie seskwiterpenu acyklicznego na bakterie i grzyby drożdżoidalne (wg 2-5).

| Drobnoustroje | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | | |
|---|--------------------------|---------------------------------|------------|-------------------------|-------------------------|
| | β -kariofyllen | α -bisabolol | chamazulen | farnezol | farnezał |
| Bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P <i>Escherichia coli</i> PZH 026B6 | 75 750 | 75 | 150 350 | | |
| Grzyby drożdżoidalne <i>Candida albicans</i> PZH 1409 PCM <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Ja-64 (P) <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> (P) <i>Torulopsis utilis</i> CNCTC 32/49 <i>Cryptococcus neoformans</i> 1972 (S) | 200 | 250 100 100 100 100 | 100 | 200 10 100 100 | 300 10 100 100 |

Tabela 8. Działanie diterpenów, triterpenów oraz sapogenin i saponin triterpenowych na bakterie i grzyby drożdżoidalne (wg 2, 5, 6).

| Drobnoustroje | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | | | | |
|---|--------------------------|-----------------------------|----------------------|----------------------|---------------|
| | kwasy abietynowy (1) | kwasy β -ursolowy (2) | kwasy oleanolowy (3) | hederasaponina C (4) | prymulina (4) |
| Bakterie <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P | 250 | 25 | | >1500 | |
| Grzyby drożdżoidalne <i>Candida albicans</i> PZH 1409 PCM <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Ja-64 (P) | | >1500 | 100 | | 100 |

(1) – Diterpen, (2) – triterpen, (3) – sapogenina triterpenowa, (4) – saponina triterpenowa

**Ryc. 2.** Wzory chemiczne aktywnych mikrobiologicznie związków terpenowych.

Piśmiennictwo

1. Kohlmünzer S. Farmakognozja. Wyd Lek PZWL, Warszawa 2000; 277-337. 2. Kędzia B, Hołderna-Kędzia E, Grabowska H. Poszukiwanie antybiotycznych substancji roślinnych. Dokumentacja tematu statutowego nr 24/91/Y. Inst Rośl Przetw Ziel, Poznań 1994. 3. Kędzia B, Krzyżaniak M, Hołderna-Kędzia E i wsp. Skład i właściwości przeciwdrobnoustrojowe *Ol. Melissa* i jego składników. Herba Pol 1994; 40:5-11. 4. Hołderna-Kędzia E.

Działanie substancji olejkowych na bakterie i grzyby. Post Fitoter 2010; 1:3-8. 5. Kędzia B, Hołderna-Kędzia E. Działanie antybiotyczne substancji roślinnych na drobnoustroje. Badania wykonane w latach 1976-2010. Dane nieopublikowane. 6. Olechnowicz-Stępień W, Lamer-Zarawska E, Kędzia B. Poszukiwanie związków przeciwbakteryjnych w krajowych balsamach. Cz. I. Izolacja substancji o działaniu przeciwbakteryjnym z kalafonii sosnowej (*Pinus sylvestris* L.). Herba Pol 1981; 27:273-82.

otrzymano/received: 20.08.2012
zaakceptowano/accepted: 27.09.2012

Adres/address:
*prof. dr hab. Bogdan Kędzia
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich
ul. Libelta 27, 61-707 Poznań
tel.: +48 (61) 665-95-50, fax: +48 (61) 665-95-51
e-mail: bogdan.kedzia@iwnirz.pl