

Ocena aktywności olejku eterycznego z *Cannabis sativa* L. wobec bakterii beztlenowych

¹Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Katedra Mikrobiologii, Gdański Uniwersytet Medyczny
Kierownik Zakładu i Katedry: prof. dr hab. Anna Kędzia

²Katedra i Zakład Stomatologii Zachowawczej, Gdański Uniwersytet Medyczny
Kierownik Katedry i Zakładu: dr hab. Barbara Kochańska prof. nadzw.

³Katedra Auksologii Klinicznej i Pielęgniarstwa Pediatricznego, Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Kierownik Zakładu: dr hab. Andrzej W. Kędzia

EVALUATION OF ACTIVITY ESSENTIAL OIL FROM CANNABIS SATIVA L. AGAINST ANAEROBIC BACTERIA

SUMMARY

Cannabis sativa L. is an annual herbaceous plant, belonging to the family Cannabinaceae. More than 525 constituents have been identified from Cannabis. These are mainly volatile terpenes and sesquiterpenes. Plant contains Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol, cannabinol, α -terpinene, myrcene, trans- β -ocimene, α -terpinolene, α -humulene, trans-caryophyllene and cannabichromene. Cannabis sativa possess antimicrobial, antifungal, antiviral and antiparasitic activity. The aim of this study was to determine the antimicrobial activity of cannabis essential oil against anaerobic bacteria. The strains of anaerobes were isolated from various infections of oral cavity. A total of 33 anaerobic bacteria and 6 reference strains were tested. Investigation was carried out using the plate dilution technique in Brucella agar supplemented with 5% defibrinated sheep blood, menadione and hemin. Inoculum contained 10^5 CFU per spot was seeded with Steers replicator upon the surface of agar with various oil concentrations as well as upon that no oil added (anaerobic strains growth control). Incubation the plates was performed in anaerobic conditions, in anaerobic jar, in 37°C for 48 hours. MIC was defined as the lowest concentrations of the cannabis oil inhibiting the growth of tested anaerobes. The results indicated that the Cannabis sativa essential oil was active against the 27 (82%) tested strains of anaerobic bacteria to the concentrations from ranges ≤ 0.8 -12.5 mg/ml. The strains of Prevotella and Porphyromonas were sensitive to the concentrations in ranges from 3.1 to 6.2 mg/ml. The strains of Bacteroides and Fusobacterium were the lowest sensitive (MIC ≥ 12.5 mg/ml). The oil was very active against the all Gram-positive anaerobes. The concentrations in ranges from ≤ 0.8 to 3.1 mg/ml inhibited the growth of 100% of the cocci and rods tested. The Gram-positive anaerobic bacteria were the more susceptible to cannabis essential oil than the Gram-negative.

KEY WORDS: SUSCEPTIBILITY – ANAEROBIC BACTERIA – CANNABIS SATIVA – ESSENTIAL OIL – ORAL CAVITY

Konopie siewne (*Cannabis sativa* L.) były znane już w starożytności. Były one wymieniane w tekstach papirusów egipskich z Teb (1700-1300 lat p.n.e.), w opisach znajdujących się na glinianych tablicach sumeryjskich z Niniwy (ok. 1500 lat p.n.e.), w papirusach etiopskich (1350 lat p.n.e.) oraz tekstach dotyczących ziół Cesarza Chin Shen-Nunga w XXVIII w. p.n.e. Konopie opisali też Dioskurides i Pliniusz Starszy (w I w. n.e.) oraz Galen (II w. n.e.) (1-4).

Cannabis sativa jest rośliną jednoroczną z rodziny konopowatych (*Cannabinaceae*). Występuje w Turcji, Pakistanie, Iranie, Afganistanie, Kazachstanie, Kirgistanie, w okolicach jeziora Bajkał, Mongolii i północno-zachodnich Chinach. W Polsce jest uprawiana. Nasiona konopi są wykorzystywane w przemyśle spożywczym i kosmetycznym, a włókno łądyg do sporządzania sznurów, lin, żagli okrętowych, w przemyśle tekstylnym i papierniczym (3, 5-7). Nasiona znalazły też zastosowanie w weterynarii i rolnictwie (hodowla zwierząt) (5, 6, 8).

Liście i kwiatostan konopi siewnych zawierają fitokannabinoidy, odpowiedzialne za szereg właściwości biologicznych, w tym m.in. działanie przeciwdepresyjne, przeciwwymiotne, przeciwbólowe, przeciwnowotworowe, przeciwdrgawkowe, przeciwzapalne, przeciwmiażdżycowe (2, 5, 12-14). W *Cannabis sativa* stwierdzono obecność ponad 525 składników (3, 9-11). Dominują kanabinoidy, tj. Δ^9 -tetrahydrokanabinol, kanabichromen, kanabichromanon, cannabidiol i cannabinol (2, 9, 15-18). Wśród składników są też obecne: flawonoidy, fenantren, dihydrofenandren, dihydrostilben, sterole i alkaloidy (10, 19-21). Charakterystyczny zapach konopi związany jest z obecnością terpenów i seskwiterpenów, tj. Δ^9 -tetrahydrokanabinol, cannabidiol, α -pinen, myrcen, trans- β -cymen, α -terpineol, trans-kariofilen i α -humulen (7).

W wyciągach z liści konopi stwierdzono występowanie steroidów, saponin, fenoli, flawonoidów, alkaloidów, tanin, aminokwasów, węglowodanów i chinonów (3, 14). Olej otrzymywany z nasion konopi siewnych zawiera kwasy, tj. α - i β -linolenowy (jako kwasy omega-6), nienasycone kwasy tłuszczowe (omega-3) – olejowy, palmitynowy, stearynowy oraz kanabidiol, Δ^9 -tetrahydrokanabinol, myrcen, β -kariofilen, β -sitosterol i α - i γ -tokoferol (5, 22-24). Ponadto w *Cannabis sativa* występuje olejek eteryczny. Zawiera on ok. 30 różnych składników, wśród których dominują: α -pinen, myrcen, trans- β -ocymen, α -terpineol, α -humulen i trans-kariofilen (7, 25, 26).

Zgodnie z tradycją w Indiach od lat wyciągi z konopi siewnych stosuje się u chorych na wściekliznę, cholerę, trąd, ospę prawdziwą, tężec, reumatyzm, padaczkę oraz w przypadku ran ciętych, oparzeń, stanów zapalnych skóry i alergii (27). Stwierdzono, że obecne w oleju konopnym sitosterole działają przeciwmiażdżycowo oraz obniżają poziom cholesterolu w surowicy krwi (19). Natomiast występujący w oleju konopnym kanabidiol wykazuje działanie przeciwpadaczkowe i przeciwdrgawkowe.

Olej konopny jest obecny w składzie różnych kosmetyków. Produkowane są szampony, mydła, płyny do pielęgnacji skóry, toniki, maseczki, mleczko, maści i masło konopne (seria kosmetyków TOVET). Natomiast do miejscowego stosowania zalecane są preparaty lecznicze, tj. maść, krem i szampon konopny (oznaczone symbolami „Egzema” lub „Łuszczyca” – seria produktów CutisHelp). Znalazły one zastosowanie w przypadku atopowego zapalenia skóry, pokrzywki, alergii, stanów zapalnych skóry, w egzemie i łuszczycy. Są nowe propozycje dotyczące szerszego niż dotychczas wykorzystania konopi w formie proszku, który mógłby być dodawany do past, płynów i preparatów stałych stosowanych do codziennej higieny jamy ustnej oraz do produkcji maści, mydeł i zasypek do pielęgnacji stóp (28-30).

Otrzymywane z *Cannabis sativa* wyciągi, olej i olejek eteryczny wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową. Swoim działaniem obejmują bakterie (2, 3, 7, 9, 10, 14, 26, 31-39), grzyby (2, 9, 38, 40-43), wirusy (16, 45, 46), pierwotniaki (2, 9, 10, 40, 46), pasożyty (47, 48) i insekty (49). W piśmiennictwie opisano aktywność przeciwbakteryjną *Cannabis sativa* wobec bakterii tlenowych. Natomiast brak jest danych na temat działania olejku eterycznego otrzymywanego z tej rośliny na bakterie rosnące w warunkach beztlenowych.

Cel pracy

Celem pracy była ocena aktywności olejku eterycznego z konopi siewnych wobec bakterii beztlenowych.

Materiały i metody badań

Do badań wykorzystano olejek eteryczny uzyskany z *Cannabis sativa* (udostępniony przez Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu), który zawierał głównie: β -myrcen (40,3%), tlenek cymenu (16,3%), trans kariofilen (12,8%), α -pinen (9,5%), limonen (7,8%), β -pinen (4,6%), α -humulen (3,6%), trans- β -farnezen (2,4%), tlenek (-)-kaprofilu (1,8%), terpinolen (0,5%) i Δ^3 -karen (0,4%).

Szczepy bakterii beztlenowych użyte do badań zostały wyizolowane z materiałów pobranych od pacjentów z różnymi zakażeniami w obrębie jamy ustnej. Ocenie wrażliwości poddano 33 szczepy należące do rodzajów: *Prevotella* (5 szczepów), *Porphyromonas* (5), *Tannerella* (1), *Bacteroides* (4), *Parabacteroides* (1), *Fusobacterium* (4), *Finegoldia* (3), *Peptostreptococcus* (2), *Parvimonas* (2), *Bifidobacterium* (2), *Propionibacterium* (4) oraz 6 szczepów wzorcowych z gatunków: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Porphyromonas levii* ATCC 29147, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337, *Finegoldia magna* ATCC 29328 i *Propionibacterium acnes* ATCC 11827.

Oznaczenie wrażliwości bakterii beztlenowych na olejek konopny przeprowadzono metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze Brucella z dodatkiem odwłóknionej krwi baraniej, menadionu i heminy. Olejek eteryczny najpierw był rozpuszczany w DMSO (Serva) a następnie w jałowej wodzie destylowanej, w celu uzyskania stężeń wynoszących 0,8, 1,6, 3,1, 6,2 i 12,5 mg/ml. Odpowiednie rozcieńczenie tego olejku dodawano do agaru. Agar Brucella bez dodatku olejku konopnego stanowił kontrolę wzrostu ocenianych szczepów bakterii beztlenowych. Inokulum, które zawierało 10^5 drobnoustrojów (CFU) na kroplę, przenoszono na powierzchnię podłoża badanych i kontrolnych aparatem Steersa. Inkubację podłoży prowadzono w anaerostatach w warunkach beztlenowych (10% CO_2 , 10% H_2 i 80% N_2 , katalizator palladowy i wskaźnik warunków beztlenowych) przez 48 godz. w temp. 37°C. Za MIC uznano takie najmniejsze stężenie olejku konopnego, które całkowicie hamowało wzrost testowanych bakterii beztlenowych.

Wyniki i ich omówienie

Uzyskane wyniki badań wrażliwości Gram-ujemnych bakterii beztlenowych na olejek eteryczny z *Cannabis sativa* zebrano w tabeli 1, szczepów Gram-dodatnich bakterii w tabeli 2, a szczepów wzorcowych bakterii beztlenowych w tabeli 3. Z przeprowadzonych badań wynika, że olejek konopny w stężeniach wynoszących $\leq 0,8$ -12,5 mg/ml był aktywny wobec 27 (82%)

Tabela 1. Wrażliwość na olejek eteryczny z *Cannabis sativa* Gram-ujemnych bakterii beztlenowych.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		≥ 12,5	6,2	3,1	1,6	≤ 0,8
<i>Prevotella bivia</i>	1		1			
<i>Prevotella buccalis</i>	1		1			
<i>Prevotella intermedia</i>	2		2			
<i>Prevotella loescheii</i>	1			1		
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1			1		
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2		2			
<i>Porphyromonas levii</i>	2		1	1		
<i>Tannerella forsythia</i>	1		1			
<i>Bacteroides fragilis</i>	1	1				
<i>Bacteroides uniformis</i>	1	1				
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	1	1				
<i>Bacteroides vulgatus</i>	1	1				
<i>Parabacteroides distasonis</i>	1		1			
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2	2				
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	2	2				
Gram-ujemne bakterie beztlenowe ogółem	20	8	9	3	0	0

Tabela 2. Wrażliwość na olejek eteryczny z *Cannabis sativa* Gram-dodatnich bakterii beztlenowych.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		≥ 12,5	6,2	3,1	1,6	≤ 0,8
<i>Finegoldia magna</i>	3					2
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	2					2
<i>Parvimonas micra</i>	2					2
Gram-dodatnie ziarniaki beztlenowe ogółem	7				1	6
<i>Bifidobacterium breve</i>	2			1	1	
<i>Propionibacterium acnes</i>	2			1	1	
<i>Propionibacterium granulosum</i>	2			1	1	
Gram-dodatnie pałeczki beztlenowe ogółem	6			3	3	
Gram-dodatnie bakterie beztlenowe ogółem	13			3	4	6
Gram-ujemne bakterie beztlenowe ogółem	20	8	9	3		
Bakterie beztlenowe łącznie	33	8	9	6	4	6

ocenianych bakterii beztlenowych. Szczepy Gram-ujemnych pałeczek z rodzaju *Prevotella* i *Porphyromonas* wykazały podobną wrażliwość (MIC w zakresie 3,1-6,2 mg/ml). Wobec kolejnych szczepów należą-

cych do gatunku *Tannerella forsythia* i *Parabacteroides distasonis*, olejek był aktywny w stężeniu wynoszącym 6,2 mg/ml. Najniższą wrażliwością na testowany olejek eteryczny charakteryzowały się szczepy z rodzaju

Tabela 3. Wrażliwość na olejek eteryczny z *Cannabis sativa* szczepów wzorcowych bakterii beztlenowych.

Drobnoustroje	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)				
		≥ 12,5	6,2	3,1	1,6	≤ 0,8
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	1	1				
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	1		1			
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	1		1			
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	1			1		
<i>Finegoldia magna</i> ATCC 293281	1					1
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827	1				1	

Bacteroides i *Fusobacterium*. Ich wzrost był hamowany w stężeniach wynoszących 12,5 mg/ml i wyższych.

Wysoką wrażliwość na olejek konopny wykazały szczepy Gram-dodatnich bakterii beztlenowych. Testowane ziarniaki z gatunków *Finegoldia magna*, *Peptostreptococcus anaerobius* i *Parvimonas micra* były wrażliwe w zakresie niskich stężeń, wynoszących ≤ 0,8-12,5 mg/ml. Natomiast Gram-dodatnie pałeczki z gatunku *Bifidobacterium breve*, *Propionibacterium acnes* i *Propionibacterium granulosum* okazały się tylko nieznacznie mniej wrażliwe od Gram-dodatnich ziarniaków. Ich wzrost hamowały niewysokie stężenia olejku w zakresie 1,6-3,1 mg/ml.

Podsumowując, warto zaznaczyć, że olejek konopny był aktywny wobec wszystkich testowanych Gram-dodatnich bakterii w zakresie stężeń wynoszących ≤ 0,8-3,1 mg/ml, czyli niższych od tych, jakie powodowały zahamowanie wzrostu szczepów Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych.

Wnioski

1. Spośród Gram-ujemnych bakterii beztlenowych największą wrażliwość na olejek konopny wykazały szczepy z rodzaju *Prevotella* i *Porphyromonas*.
2. Gram-dodatnie ziarniaki i pałeczki beztlenowe charakteryzowały się wysoką wrażliwością na olejek z *Cannabis sativa*.
3. Szczepy Gram-dodatnich bakterii były bardziej wrażliwe na oceniany olejek eteryczny niż szczepy Gram-ujemnych pałeczek beztlenowych.

Piśmiennictwo

1. Frankhauser M. History of *Cannabis* in Western medicine. W: *Cannabis* and Cannabinoids (red. Grotenhermen F, Russo EB). The Haworth Integrative Healing Press, New York 2002; 37-51. 2. Ahmed SA, Ross SA i wsp. Structure determination and absolute configuration of cannabichromanone derivatives from high potency *Cannabis sativa*. *Tetrahedron Lett.* 2008; 13(42):6050-3. 3. Monika W, Kour N, Kaur M. Antimicrobial analysis of leaves of *Cannabis sativa*. *J Sci* 2014; 4(2):123-7. 4. Russo EB. History of *cannabis* as medicine. (red. Guy GW i wsp.). *Pharmaceutical*

Press, London 2004. 5. Borhade S. Comparative study of some physico-chemical properties of linseed (*Linum usitatissimum*), hemp (*Cannabis sativa*) and pumpkin (*Cucurbita mixta*) seed oil. *Discovery* 2014; 20(64):133-9. 6. Brown DT. W: *Medicinal and aromatic plants-industrial profiles*. Cannabis (red. Brown DT). Harwood Academic, Amsterdam 1998; vol 4, 115-24. 7. Novak J, Zitterl-Eglseer K, Deans J i wsp. Essential oils of different cultivars of *Cannabis sativa* L. and their antimicrobial activity. *Flavour Fragr J* 2001; 16(4):259-62. 8. Khan RU, Durrizi FR, Chand N i wsp. Influenzae of feed supplementation with *Cannabis sativa* on quality of broilers Caracass. *Pakistan Vet J* 2010; 30(1):34-8. 9. Radwan MM, ElSohly MA, Shade D i wsp. Biologically active cannabinoids from high-potency *Cannabis sativa*. *J Nat Prod* 2009; 72:906-11. 10. Radwan MM, ElSohly MA, Slade D i wsp. Non-cannabinoid constituents from a high potency *Cannabis sativa* variety. *Phytochem* 2008; 69:2627-33. 11. Radwan MM, Ross SA, Ahmed SA i wsp. Isolation and characterization of new cannabis constituents from a high-potency variety. *Planta Med* 2008; 74:267-72. 12. Karler R, Cely W, Turhanis SA. The anticonvulsant activity of cannabidiol and cannabinol. *Life Sci* 1973; 13:1527-31. 13. Karler R, Turkanis SA. The cannabinoids as potential anti-epileptics. *J Clin Pharmacol* 1981; 21:437-48. 14. Das B, Mishra PC. Antibacterial analysis of crude extracts from the lives of *Tages erecta* and *Cannabis sativa*. *Int J Environ Sci* 2011; 2(3):1605-9. 15. Lambert DM, Fowler CJ. The endocannabinoids system drug targets lead components and potential therapeutic application. *J Pharm Int* 1980; 1:19-21. 16. Turner CE, ElSohly MA. Biological activity and isomers. *J Clin Pharmacol* 1981; 21(8-9 Suppl):283S-91S. 17. Russo EB. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol* 2011; 163:1344-64. 18. Koch JE. Delta 9-THC stimulates food intake in Leis rats: effects on chow high-fat and sweet high-fat diets. *Pharmacol Biochem Behav* 2001; 68:539-43. 19. Malini Z, Vanithakumari G. Rat toxicity studies with sitosterol. *J Ethnopharmacol* 1990; 28:221-34. 20. Ross SA, ElSohly MA. Constituents of *Cannabis sativa* L. XXVII. A review of the natural constituents. 1980-1994. *Zagazig J Pharm Sci* 1995; 4:1-10. 21. Turner CE, ElSohly MA, Boeren EG. Constituents of *Cannabis sativa* L. XVII. A review of the natural constituents. *J Nat Prod* 1980; 43:169-234. 22. Callaway JC, Tennila D, Pate DW. Occurrence of "omega-3" steariolonic acid (cis-6,9,12,15-octadecatetraenoic acid) in hemp (*Cannabis sativa* L.) seed. *J Int Hemp Assoc* 1996; 3(2):61-4. 23. Deferne JL, Pete DW. Hemp seed oil: A source of valuable essential fatty acid. *J Int Hemp Assoc* 1996; 3(1):4-7. 24. Callaway JC, Laakkonen TT. Cultivation of *Cannabis* oil seed varieties in Finland. *J Int Hemp Assoc* 1996; 3(1):32-4. 25. Adams RP. Identification of essential oils components by gas chromatography/mass spectrometry. *Card Stream IL. Allured Publ* 1995.

26. Nissen L, Zatta A, Stefanini I i wsp. Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). *Fitoter* 2010; 81:413-9.
27. Dilara B, Nath SC. Eynho biological review of medicinal plants used for skin diseases and related problems in Northeastern India. *J Herbal Spic Med Plants* 2000; 7131:55-93.
28. Vogl CR, Molleken H, Lissek-Wolf G i wsp. Hemp (*Cannabis sativa* L.) as a source for green cosmetics: yield of seed and fatty acid composition of 20 varieties under the growing conditions of organic farming in Austria. *J Ind Hemp* 2004; 9(1):51-68.
29. Misner B. A novel aromatic oil compound inhibits microbial overgrowth on feet: A case study. *J Int Soc Sports Nutr* 2007; 4:3doi:10.1186/1550-2783-4-3.
30. Khan BA, Warner P, Wang H. Antibacterial properties of hemp and other fibre plants: A review. *Bio Resources* 2014; 9(2):820-32.
31. Ali EMM, Almagboul ZI, Khogali SME i wsp. Antimicrobial activity of *Cannabis sativa* L. *Chinese Med* 2012; 3:61-4.
32. Appendino G, Gibbons S, Giana A i wsp. Antibacterial cannabinoids from *Cannabis sativa*: A structure-active study. *J Nat Prod* 2008; 71:1427-30.
33. Tripathi NN. *In vitro* antibacterial activities of the essential oils of aromatic plants against *Erwinia herbicola* (Lohnis) and *Pseudomonas putida* (Kris Hamilton). *J Serb Chem Soc* 2012; 77(3):313-23.
34. Van Klingern B, Ten Ham M. Antibacterial activity of delta 9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Antoni van Leevenhoek* 1976; 42(1-2):9-12.
35. Singh SK, Thakur K, Chunhan PK. Effect of poly herbal formulation against *Klebsiella pneumoniae* causing pneumonia in children's. *Asian J Pharm Clin Res* 2012; 5:69-75.
36. Borhade SS. Synthesis, characterization and antibacterial activity of new fatty acid thiosemicarbazide from *Cannabis sativa* (hemp) seed oil. *World J Pharm Pharmaceut Sci* 2014; 3(4):953-63.
37. Yasmeen R, Hashmi AS, Abjum AA i wsp. Antibacterial activity of indigenous herbal extracts against urease producing bacteria. *J Animal Pl Sci* 2012; 22(2):416-9.
38. Sharma V, Sharma HV, Metha D i wsp. Comparative analysis of antibacterial and antifungal properties of traditional medicinal plants of Shimla and Solan, Himachal Pradesh. *Int J Pharmauog Phytochem Res* 2014; 6(1):18-26.
39. Verma RS, Padalia RC, Verma SK i wsp. The essential oil of "bhang" (*Cannabis sativa* L.) for non-narcotic applications. *Curr Sci* 2014; 107:860-65.
40. ElSohly HN, Turner CE, Clark AM i wsp. Synthesis and antimicrobial activities of certain cannabinochromene and cannabigeol related compounds. *J Pharm Sci* 1982; 71:1319-23.
41. Dahiya MS, Join GC. Inhibitory effects of cannabidiol and tetrahydrocannabinol against some solid inhibiting fungi. *Indian Drugs* 1977; 14(4):76-9.
42. Mc Partland JM. Fungal pathogens of *Cannabis sativa* in central Illinois. *Phytopathol* 1983; 73:793-8.
43. Nisha AT, Garg S8, Gautam N i wsp. *In vitro* antifungal potency of plant extracts against five phytopathogens. *Braz Arch Biol Technol* 2011; 54(6):1093-8.
44. Blevins RD, Dumic MP. The effect of delta-9-tetrahydrocannabinol on *herpes simplex* virus replication. *J Gen Virol* 1980; 49(2):427-31.
45. Lancz G, Specter S, Browne HK. Suppressive effect of delta-9-tetrahydrocannabinol on *herpes simplex* virus infectivity *in vitro*. *Proc Soc Exper Biol Med* 1991; 196(4):401-4.
46. Dahab MM, Musa EM, Osman i wsp. Antigiardial activity and toxicological exploration of *Cannabis sativa* extracts. *J Forest Prod Ind* 2013; 2(3):24-9.
47. Mojumder VSD, Mishra MM, Goswami BK i wsp. Nematicidal efficacy of some wild plants against pigeon pre cyst nematode, *Heterodera cajani*. *Int Nematod Net Newsl* 1989; 6(2):21-4.
48. Campbell WE, Gammon DW, Smith P i wsp. Composition and antimalarial activity *in vitro* of the essential oil of *Tetradenia riparia*. *Planta Med* 1997; 63:270-2.
49. Rothschild M, Rowan MR, Faibairn JW. Storage of cannabinoids by *Artica caya* and *Zonocerus elegans* fed on chemical distinct strains of *Cannabis sativa*. *Nature* 1977; 266:650-1.

otrzymano/received: 01.09.2014
zaakceptowano/accepted: 05.09.2014

Adres/address:
*prof. dr hab. Anna Kędzia
Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej Katedra Mikrobiologii
Gdański Uniwersytet Medyczny
ul. Do Studzienki 38, 80-227 Gdańsk
tel.: +48 (58) 349-21-85
e-mail: anak@gumed.edu.pl