

*Anna Kędzia¹, Andrzej W. Kędzia²

Wrażliwość bakterii beztlenowych na olejek anyżowy (*Oleum anisi*)

Susceptibility of anaerobic bacteria on anise oil (*Oleum anisi*)

¹Emerytowany profesor dr hab. n. med. Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

²Katedra Auksologii Klinicznej i Pielęgniarstwa Pediatricznego, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Kierownik Katedry: dr hab. n. med. Andrzej W. Kędzia, prof. nadzw.

SUMMARY

Introduction. Anise (*Pimpinella anisum* L.) belong to Apiaceae family. The plant is distributed in China, Iran, India and America. The fruits green lanceolate leaves, white flowers and green-yellow seeds. The fruits are used to produce essential oils. The anise oil is widely used in folk medicine, food, cosmetic and pharmaceutical industries. The fruits consist of 6-30% volatile oil. Its major components are trans-anethole, estragol, eugenol, linalool, α -terpineol, cis-anethole, anisaldehyde, coumarins, methylchavicol, scopoletin, umbelliferone, estrols and polyacetylenes.

Aim. The aim of this study was to determine the antimicrobial activity of anise oil against anaerobic bacteria isolated from oral cavity and upper respiratory tract.

Material and methods. A total 54 strains of anaerobic bacteria and 8 standard strains from genera *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Fusobacterium*, *Tannerella*, *Fingoldia*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* and 8 standard strains *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Porphyromonas asaccharolytica* ATCC 29743, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Fingoldia magna* ATCC 29328, *Parabacteroides distasonis* ATCC 8503, *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 and *Actinomyces odontolyticus* ATCC 17929 were investigated.

The susceptibility (MIC) was determined by the two-fold of plate dilution method in *Brucella* agar supplemented with 5% defibrinated sheep blood, menadione and hemin. The inoculum containing 10^6 CFU/spot was seeded with Steers replicator upon the surface of agar containing testing oil and free oil (the strains growth control). Incubation of the plates was performed in anaerobic conditions in anaerobic jars with 10% CO₂, 10% H₂ and 80% N₂. The MIC was considered to be the last dilution that did not show bacterial colonial growth.

Results. The results showed that the most susceptible to oils from Gram-negative anaerobes were the strains of *Tannerella forsythia* (MIC 0.5- < 0.12 mg/ml), *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides uniformis* (MIC = 25 mg/ml). The strains from genus *Prevotella bivia* and *Parabacteroides distasonis* were the lowest sensitive. The growth of the strains was inhibited by concentration > 2.0 mg/ml. The anise oil was more active against Gram-positive rods and cocci than Gram-negative anaerobic bacteria.

Conclusions. The anise oil was very active against all bacterial strains tested. The most susceptible to oil was the strains from genus *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides uniformis*. The Gram-positive rods and cocci were more susceptible to anise oil than anaerobic Gram-negative rods.

Keywords: susceptibility, anaerobic bacteria, anise oil, oral cavity, upper respiratory tract

STRESZCZENIE

Wstęp. Anyżek (*Pimpinella anisum* L.) należy do rodziny Apiaceae. Roślina występuje w Chinach, Iranie, Indiach i Ameryce. Ma zielone lancetowate liście, białe kwiaty oraz owoce barwy zielonożółtej. Owoce wykorzystywane są do produkcji olejku. Olejek anyżowy jest szeroko stosowany w medycynie ludowej, a także do wytwarzania żywności, kosmetyków i środków leczniczych. Owoce zawierają 6-30% olejku eterycznego. Jego głównymi składnikami są: trans-anetol, estragol, eugenol, linalol, α -terpineol, cis-anetol, aldehyd anyżowy, kumaryny, metylochawikol, skopoletyna, umbeliferon, estrole i poliacytleny.

Cel pracy. Celem badań była ocena przeciwdrobnoustrojowej aktywności olejku anyżowego wobec bakterii beztlenowych wyizolowanych z jamy ustnej i górnych dróg oddechowych.

Materiał i metody. Ogółem badaniom poddano 54 szczepy bakterii beztlenowych z rodzajów: *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Fusobacterium*, *Tannerella*, *Fingoldia*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus*, *Actinomyces*, *Propionibacterium* i *Bifidobacterium*, a także 8 szczepów wzorcowych – *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Porphyromonas asaccharolytica* ATCC 29743, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Fingoldia magna* ATCC 29328, *Parabacteroides distasonis* ATCC 8503, *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 oraz *Actinomyces odontolyticus* ATCC 17929.

Wrażliwość (MIC) oznaczano metodą seryjnych rozcieńczeń w agarze *Brucella* zawierającym 5% krwi baraniej, menadion i heminę. Inokulum zawierające 10^6 CFU na kroplę nanoszono aparatem Steersa na powierzchnię agaru zawierającego badany olejek lub bez niego (kontrola wzrostu szczepów). Inkubację płytek prowadzono w warunkach beztlenowych w anaerostatach zawierających mieszaninę gazów: 10% CO_2 , 10% H_2 i 80% N_2 , katalizator palladowy i wskaźnik beztlenowości, w temp. 37°C przez 48 godz. MIC określano jako najmniejsze rozcieńczenie olejku, które całkowicie hamowało wzrost bakterii beztlenowych.

Wyniki. Wyniki wskazują, że najbardziej wrażliwe na olejek anyżowy spośród Gram-ujemnych bakterii beztlenowych były szczepy *Tannerella forsythia* (MIC 0,5- < 0,12 mg/ml), *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides vulgatus* i *Bacteroides uniformis* (MIC = 25 mg/ml). Szczepy z gatunków *Prevotella bivia* i *Parabacteroides distasonis* były najmniej wrażliwe na olejek. Wzrost tych bakterii był hamowany przez stężenia wynoszące > 2,0 mg/ml. Olejek anyżowy był bardziej aktywny wobec Gram-dodatnich pałeczek i ziarniaków w porównaniu z Gram-ujemnymi bakteriami beztlenowymi.

Wnioski. Olejek anyżowy był bardzo aktywny wobec wszystkich testowanych bakterii beztlenowych. Najbardziej wrażliwe okazały się szczepy z gatunku *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides vulgatus* i *Bacteroides uniformis*. Gram-dodatnie pałeczki i ziarniaki charakteryzowały się wyższą wrażliwością na olejek anyżowy w porównaniu z beztlenowymi Gram-ujemnymi pałeczkami.

Słowa kluczowe: wrażliwość, bakterie beztlenowe, olejek anyżowy, jama ustna, górne drogi oddechowe

Wstęp

Olejki eteryczne występują w wielu roślinach. Od wieków są wykorzystywane jako leki w medycynie tradycyjnej takich krajów, jak: Chiny, Iran i Indie. Podróżujący po wielu krajach Polak, Szymon Syreński (Syreniusz), żyjący w latach 1540-1611, napisał dzieło, w którym zamieścił opisy i rysunki 765 roślin. Był to podręcznik ziołolecznictwa (wydany w 1613 r.) zawierający m.in. opis i działanie anyżku.

Biedrzeniec (anyż, anyżek), *Pimpinella anisum* L. syn. *Anisum vulgare* Gaertn., należy do rodziny selerowatych (*Apiaceae*). Jest to roślina jednoroczna. Wymaga gleby bogatej w próchnicę. Osiąga wysokość do ok. 50 cm. Górna część łodygi jest rozgałęziona. Wytwarza zielone ząbkowane liście i drobne białe kwiaty ułożone w baldachy. Tworzy podłużny, zielono-żółty, jajowaty owoc długości 5 mm. Owoce (*Fructus anisi*) są suszone w warunkach naturalnych lub specjalnych suszarniach. Zawierają one od 6 do 30% olejku eterycznego, który jest wykorzystywany w lecznictwie (1-3). Wśród głównych jego składników wymienia się: trans-anetol, estragon, eugenol, linalol, α -terpineol, cis-anetol, aldehyd anyżowy, kumaryny, metylochawikol, skopoletynę, umbeliferon, estrole i poliacetyleny (4-8).

Badania wskazują, że wyciągi wodne i alkoholowe oraz olejek anyżowy działają wykrztuśnie, rozkurczowo i przeciwwymiotnie (9, 10). Działają korzystnie w hipolipidemii, cukrzycy, menopauzie i wzmagają laktację (11-14). Wspomagają leczenie przewlekłego zapalenia zatok (15). Oddziałują korzystnie w zaburzeniach żołądkowych różnego pochodzenia i wrzodach żołądka (13, 14, 16-20). Doświadczenia przeprowadzone na zwierzętach wykazały, że działanie przeciwbólowe olejku anyżowego można porównać do skuteczności morfiny czy aspiryny (18). Nasiona *Pimpinella anisum* działają osłaniająco na

komórki wątroby (21). Udowodniły to doświadczenia przeprowadzone przez Jamshidzadeha i wsp. (21). Oddziałują one korzystnie w leczeniu kamicy nerek i pęcherza moczowego (22). Ponadto anyżek usprawnia zapamiętywanie w przypadku niedotlenienia mózgu i choroby Alzheimera (24, 25). De Sonsa (24), El-Hodairy (25) i inni autorzy (23-27) zalecają jego stosowanie w padaczce i depresji. Wykazuje też aktywność przeciwutleniającą (26).

W wielu publikacjach opisano aktywność przeciwdrobnoustrojową olejku. Obejmowała ona działanie na bakterie (4, 28-35), grzyby (32, 36-40), wirusy (41, 42) i owady (43-48). Przeprowadzone dotychczas doświadczenia dotyczą w większości bakterii tlenowych. Brak badań dotyczących bakterii beztlenowych.

Cel pracy

Celem badań było określenie wrażliwości bakterii beztlenowych wyizolowanych z jamy ustnej i górnych dróg oddechowych na olejek anyżowy.

Materiał i metody

Materiały do badań pobrano od pacjentów z zakażeniem w obrębie jamy ustnej oraz górnych dróg oddechowych. Ocenie wrażliwości poddano 54 szczepy bakterii beztlenowych wyizolowanych od pacjentów, które należały do następujących rodzajów: *Porphyromonas* (4 szczepy), *Prevotella* (7), *Bacteroides* (8), *Parabacteroides* (2), *Fusobacterium* (6), *Tannerella* (2), *Fingoldia* (6), *Parvimonas* (2), *Peptostreptococcus* (6), *Actinomyces* (4), *Propionibacterium* (6) i *Bifidobacterium* (2), a także 8 szczepów wzorcowych, w tym: *Bacteroides fragilis* ATCC 25285, *Porphyromonas asaccharolytica* ATCC 29743, *Peptostreptococcus anaerobius* ATCC 27337, *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Fingoldia magna* ATCC 29328, *Parabacteroides distasonis*

ATCC 8503, *Propionibacterium acnes* ATCC 11827 oraz *Actinomyces odontolyticus* ATCC 17929. Badanie wrażliwości (MIC) wymienionych bakterii na olejek anyżowy (Semifarm) przeprowadzono, wykorzystując metodę seryjnych rozcieńczeń w agarze Brucella zawierającym 5% krwi baraniej, menadion i heminę. Przed doświadczeniem olejek rozpuszczono w DMSO (Serva), w celu uzyskania stężenia 100 mg/ml. Kolejne rozcieńczenia przygotowano w jałowej wodzie destylowanej. Do badań użyto następujących stężeń olejku: 2,0, 1,5, 1,0, 0,5, 0,25 i 0,12 mg/ml. Zawiesinę bakteryjną zawierającą 10^6 CFU na kroplę nanoszono na powierzchnię agaru aparatem Steersa. Do kontroli wzrostu szczepów wykorzystano podłoże niezawierające olejku. Podłoża z posiewami oraz podłoża kontrolne hodowano w anaerostatach zawierających mieszaninę gazów: 10% CO₂, 10% H₂ i 80% N₂, katalizator palladowy i wskaźnik beztlenuwości, w temp. 37°C przez 48 godz. Za najmniejsze stężenie (MIC) olejku przyjmowano takie, które całkowicie hamowało wzrost ocenianych bakterii beztlenuwych.

Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki badań wrażliwości na olejek anyżowy Gram-ujemnych bakterii beztlenuwych zamieszczono w tabeli 1, wyniki Gram-dodatnich

bakterii w tabeli 2, a szczepów wzorcowych w tabeli 3. Wskazują one, że niskie stężenia olejku, w zakresie 0,5-≤ 0,12 mg/ml, hamowały wzrost 58,6% szczepów Gram-ujemnych pałeczek. Największą wrażliwością charakteryzowały się szczepy z gatunku *Tannerella forsythia* (MIC 0,5- < 0,12 mg/ml), *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides vulgatus* i *Bacteroides uniformis* (MIC = 0,25 mg/ml). Najniższą aktywność wykazał olejek anyżowy wobec szczepów z gatunku *Prevotella bivia* i *Parabacteroides distasonis*. Ich wzrost był hamowany przez stężenia powyżej 2,0 mg/ml. Wyższą aktywnością w porównaniu z Gram-ujemnymi pałeczkami charakteryzowały się Gram-dodatnie ziarniaki. Olejek anyżowy wykazał największą aktywność wobec szczepów z gatunku *Peptostreptococcus anaerobius* (MIC w zakresie stężeń ≤ 0,12-0,25 mg/ml). Natomiast wzrost wszystkich testowanych Gram-dodatnich ziarniaków był hamowany w stężeniach wynoszących ≤ 0,12-2,0 mg/ml. Podobnie, Gram-dodatnie pałeczki były bardziej wrażliwe na olejek niż Gram-ujemne pałeczki. Wzrost 91% tych bakterii był hamowany przez stężenia w zakresie ≤ 0,12-1,0 mg/ml. Spośród wszystkich testowanych bakterii beztlenuwych, 33 szczepy (61%) okazały się wrażliwe na niskie stężenia olejku anyżowego (MIC ≤ 0,12-0,5 mg/ml).

Badania innych autorów również wskazują na działanie olejku na niektóre bakterie i grzyby. Oceniane

Tab. 1. Działanie olejku anyżowego na Gram-ujemne bakterie beztlenuwe

Bakterie beztlenuwe	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)					
		≥ 2,0	2,0	1,0	0,5	0,25	≤ 0,12
<i>Bacteroides fragilis</i>	3			1		2	
<i>Bacteroides uniformis</i>	1					1	
<i>Bacteroides ureolyticus</i>	3			1	1	1	
<i>Bacteroides vulgatus</i>	1					1	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	4	1				3	
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	2					2	
<i>Parabacteroides distasonis</i>	2	2					
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	4			2		2	
<i>Prevotella bivia</i>	2	2					
<i>Prevotella buccalis</i>	1			1			
<i>Prevotella levii</i>	2			1		1	
<i>Prevotella loescheii</i>	2	1				1	
<i>Tannerella forsythia</i>	2				1		1
Gram-ujemne bakterie beztlenuwe ogółem	29	6		6	2	14	1

Tab. 2. Działanie olejku anyżowego na Gram-dodatnie bakterie beztlenowe

Bakterie beztlenowe	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)					
		≥ 2,0	2,0	1,0	0,5	0,25	≤ 0,12
<i>Finegoldia magna</i>	3			1	2		3
<i>Parvimonas micros</i>	2		1				1
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	6					1	5
Gram-dodatnie ziarniaki beztlenowe ogółem	14		1	1	2	1	9
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	2			1			1
<i>Actinomyces viscosus</i>	2			1			1
<i>Propionibacterium acnes</i>	2			1	1		
<i>Propionibacterium granulosum</i>	4		1	2		1	
<i>Bifidobacterium breve</i>	1			1			
Gram-dodatnie pałeczki ogółem	11		1	6	1	1	2
Bakterie beztlenowe łącznie	54	6	2	13	5	16	12

Tab. 3. Działanie olejku anyżowego na wzorcowe szczepy bakterii beztlenowych

Bakterie beztlenowe	Liczba szczepów	Najmniejsze stężenie hamujące MIC (mg/ml)					
		≤ 2,0	2,0	1,0	0,5	0,25	≤ 0,12
<i>Actinomyces odontolyticus</i> ATCC 17929	1			1			
<i>Finegoldia magna</i> ATCC 29328	1				1		
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	1						1
<i>Propionibacterium acnes</i> ATCC 11827	1			1			
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	1			1			
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i> ATCC 29743	1			1			
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25583	1	1					
<i>Parabacteroides distasonis</i> ATCC 8503	1	1					

przez Gulcin i wsp. (4) szczepy, w tym *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* oraz *Klebsiella pneumoniae*, były wrażliwe na 50% wodne i metanolowe roztwory olejku anyżowego. Do badań autorzy wykorzystali metodę krążkowo-dyfuzyjną. Maruzzella i Sicurella (35) wykazali wrażliwość na olejek szczepu *Mycobacterium avium*. Janssen i wsp. (49) opisali aktywność olejku wobec szczepów *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus*

subtilis, *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans*. Zwrócili uwagę, że Gram-dodatnie bakterie i *Candida albicans* były bardziej wrażliwe niż Gram-ujemne pałeczki. Morris i wsp. (50) zbadali wrażliwość szczepów *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp. i *Candida albicans* metodą rozcieńczeniową (MIC) i krążkową. Parabuseenivasan i wsp. (51) wykazali wrażliwość na olejek anyżowy szczepów *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*

i *Klebsiella pneumoniae* metodą krążkowo-dyfuzyjną. Przeprowadzone przez Hammera i wsp. (32) badania potwierdziły aktywność olejku wobec szczepów: *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas sobria*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans*. Jednak stężenia działające były wyższe i wynosiły od 2,5 do 20,0 mg/ml. Ponadto pałeczki Gram-ujemne *Klebsiella pneumoniae* i *Pseudomonas aeruginosa* do zahamowania wzrostu wymagały użycia jeszcze wyższych stężeń (MIC > 20,0 mg/ml). W innych badaniach (52) szczep *Staphylococcus aureus* FDA był wrażliwy na stężenie niższe (MIC = 0,25 mg/ml). Natomiast Si i wsp. (53) wykazali działanie aldehydu anyżowego wyizolowanego z olejku wobec szczepów *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Lactobacillus plantarum*,

Lactobacillus acidophilus, *Bifidobacterium longum* i *Bifidobacterium breve* (MIC = 0,9 mg/ml).

Podsumowując wyniki, można zaznaczyć, że Gram-dodatnie pałeczki i ziarniaki były bardziej wrażliwe na olejek anyżowy w porównaniu z pałeczkami Gram-ujemnymi.

Wnioski

1. Spośród Gram-ujemnych bakterii beztlenowych największą wrażliwość na olejek anyżowy wykazały szczepy: *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides vulgatus* i *Bacteroides uniformis*.
2. Gram-dodatnie pałeczki i ziarniaki beztlenowe charakteryzowały się wyższą wrażliwością na olejek niż Gram-ujemne pałeczki.
3. Olejek anyżowy był wysoce aktywny wobec wszystkich badanych bakterii beztlenowych.

Piśmiennictwo

1. Besharati-Seidagani A, Jabbari A, Yamini Y. Headspice solvent microextractions: a very rapid method for identification of volatile components of Iranian *Pimpinella anisum* seed. *Anak Chim Acta* 2005; 530(1):155-61.
2. Lin W, Ge T, Pan Z i wsp. The effects of herbal medicine on epilepsy. *Oncotarg* 2017; 8(29):48385-97.
3. Soleni-Surmaghi MH. Medicinal plants and phytotherapy. Donyay Taghziah Press 2010; 1.
4. Gulcin I, Oktay M, Kirecci E i wsp. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chem* 2003; 83(3):371-82.
5. Orav A, Raal A, Arak E. Essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. fruits from various European countries. *Nat Prod Res* 2008; 22(3):227-32.
6. Skalicka-Woźniak K, Walasek M, Ludwiczak A i wsp. Isolation of terpenoids from *Pimpinella anisum* essentials oil by high-performance counter-current chromatography. *J Separation Sci* 2013; 36(16):2611-4.
7. Ullah H, Honermeier B. Fruit field, essential oil concentration and composition of Tyree anise cultivars (*Pimpinella anisum* L.) in relation to sowing rate and locations. *Ind Crops Prod* 2013; 42:489-99.
8. Denev RU, Kuzmanova IS, Momchilova SM i wsp. Resolution and quantification of isomeric fatty acids by silver ion HPLC: fatty acid composition of aniseed oil (*Pimpinella anisum*, *Apiaceae*). *JAOAC Int* 2011; 94(1):4-8.
9. Titapelli CR, de Andrade CR, Cassano AO i wsp. Antispasmodic and relaxant effects of the hidroalcoholic extract of *Pimpinella anisum* (*Apiaceae*) on rat anococcygens smooth muscle. *J Ethnopharmacol* 2007; 110(1):23-9.
10. Baskabady MH, Ramazani-Assari M. Relaxant effect of *Pimpinella anisum* on isolated guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *J Ethnopharmacol* 2001; 74(1):83-8.
11. Rajeshwari CU, Abirami M, Andallum B. *In vitro* and *in vivo* antioxidant potential of aniseed (*Pimpinella anisum*). *Asian J Exp Biol Sci* 2011; 2(1):80-9.
12. Rajeshwari U, Shobha I, Andalln B. Composition of aniseed and coriander seeds for antidiabetes, hypolipidemic and antioxidant activities. *Spatula DD* 2011; 1(1):9-16.
13. Gilliani NP. The palliation of nurse in hospice and palliative care patients with essential oils of *Pimpinella anisum* (aniseed), *Foeniculum vulgare* var. dulce (Sweet fennel), *Anthemis nobilis* (Roman chamomile) and *Mentha x piperita* (peppermint). *Int J Aromather* 2005; 15(4):163-7.
14. Picon PD, Picon RV, Costa AF i wsp. Randomised clinical trial of a phytotherapeutic compound containing *Pimpinella anisum*, *Foeniculum vulgare*, *Sambucus nigra* and *Cassia angustifolia* for chronic constipation. *BMC Compl Altern Med* 2010; 10:17-25.
15. Vazifekhan S, Shams-Ardekani MR, Kamalinejad M i wsp. Evaluation of novel natural drop for treatment of chronic rhinosinusitis without nasal polyps: a single blind randomized trial. *Int Forum Allergy Rhinol* 2016; 6(9):943-9.
16. Al Mofleh IA, Alhalder AA, Mossa IS i wsp. Aqueous suspension of anise "*Pimpinella anisum*" protects rats against chemically induced gastric ulcers. *World J Gastroenterol* 2007; 13(7):1112-8.
17. Kreydiyyeh SI, Usta J, Knia K i wsp. Aniseed oil increases glucose absorption and reduces urine output in rat. *Life Sci* 2003; 74(5):663-73.
18. Tass A. Analgesic effect of *Pimpinella anisum* L. essential oil extracted in mice. *Indian Veterin J* 2009; 86(2):145-7.
19. Robies-Zepeda R, Velazquez-Contreras A, Garibay-Escarbar A i wsp. Antimicrobial activity of Northwestern Mexican plants against *Helicobacter pylori*. *J Med Food* 2011; 14(10):1280-3.
20. Ashraffodin-Ghoshegir S, Mazaneri M, Ghanndi A i wsp. *Pimpinella anisum* in the treatment of functional dyspepsia. A double-blind, randomized clinical trial. *J Res Med Sci* 2015; 20(1):13-21.
21. Jamshidzadeh A, Heidari R, Razmjoni M i wsp. An *in vitro* and *in vivo* investigation on hepatoprotective effects of *Pimpinella anisum* seed essential oil and extracts against

- carbon tetrachloride induced toxicity. Iran J Basic Med Sci 2015; 18:205-11.
22. Bahmani M, Baharvand-Ahmadi B, Tajeddini P i wsp. Identification of medical plants for the treatment of kidney and urinary stones. J Renal Inj Prev 2016; 5(3):120-33.
 23. Shahamat Z, Abbasi-Maleki S, Motemamed SM. Evaluation of antidepressant-like effect of aqueous and ethanolic extracts of *Pimpinella anisum* fruit in mice. Avicenna J Phytomed 2016; 6(3):322-8.
 24. De Sonsa DP. Analgetic-like activity of essential oils constituents. Mol 2011; 16:2233-52.
 25. El-Hodairy FA. Neuroprotective effects of *Pimpinella anisum* on neurotoxicity induced by bisphenol on normal and diabetic rats. Int J Pharm Sci 2014; 6(3):9-12.
 26. Tavallali V, Rahmati S, Bahmanzadegan A. Antioxidant activity, polyphenolic contents and essential oil composition of *Pimpinella anisum* L. as affected by zinc fertilizer. J Sci Food Agric 2017; 97(14):4883-9.
 27. Twaij AA, Elishia EE, Khalid RM i wsp. Analgesic studies on some Iraqi medicinal plants. Int J Crude Drug Res 1988; 25(4):251-4.
 28. AL-Bayati FA. Synergistic antimicrobial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. J Ethnopharmacol 2007; 116(3):403-6.
 29. Radaelii M, Da Silva BP, Weidlich L i wsp. Antimicrobial activities of six essential oils commonly used condiments in Brasil agains *Clostridium perfringens*. Brazil J Microbiol 2016; 47(2):424-30.
 30. Plant J, Stephens B. Evaluation of the antibacterial activity of Sizable Set of essential oils. Med Arom Plants 2015; 4(2):185-9.
 31. Akhtar A, Deshmukin AA, Bhonsle AV. *In vitro* antibacterial activity of *Pimpinella anisum* fruit extracts against some pathogenic bacteria. Veterinary World 2008; 1(9):272-4.
 32. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. J Appl Microbiol 1999; 86:985-90.
 33. Di Pasqua R, De Feo V, Villiani F. *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from Mediterranean *Apiaceae*, *Verbenaceae* and *Lamiaceae* against foodborne pathogens and spoilage bacteria. Ann Microbiol 2005; 55(2):139-43.
 34. Chao S, Young G, Oberg G i wsp. Inhibition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by essential oils. Flav Fragr J 2008; 23:444-9.
 35. Maruzzella JC, Sicurella NA. Antibacterial activity of essential oil vapours. J Am Pharm Assoc 1960; 49:692-4.
 36. Pauli A. Anticandidal low molecular compounds from higher plants with special reference to compounds from essential oils. Med Res Rev 2006; 26(2):223-68.
 37. Shukla HS, Tripathi SC. Antifungal substance in the essential oil of anise (*Pimpinella anisum* L.). Ulural Biol Chem 1987; 51(7):1991-3.
 38. Kosalec I, Pepeljnjak S, Kuatrak D. Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., *Apiaceae*). Acta Pharmaceut 2005; 55(4):377-85.
 39. Maruzzella JC, Ligouri L. The *in vitro* antifungal activity of essential oils. J Am Pharm Assoc 1956; 47(4):250-4.
 40. Yazdani D, Reza zadeh S, Amin G i wsp. Antifungal activity of dried extracts of anise (*Pimpinella anisum* L.) and star anise (*Illicium verum* Hook f.) against dermatophyte and saprophyte fungi. J Med Plants 2009; 8(5):24-9.
 41. Shukla HS. Antiviral properties of essential oils of *Foeniculum vulgare* and *Pimpinella anisum*. Agronomiae 1989; 9(3):277-9.
 42. Lee JB, Yamagishi C, Hayashi K i wsp. Antiviral and immunostimulating effects of lignin-carbohydrate-protein complexes from *Pimpinella anisum*. Biosci Biotechnol Biochem 2011; 75(3):459-65.
 43. Kimaris AC, Koliopoulos G, Michealakis A i wsp. Bioactivity of *Dianthus caryophyllus*, *Lepidium sativum*, *Pimpinella anisum* and *Illicium verum* essential oils and their major components against the *West Nile* vector *Culex pipiens*. Parasitol Res 2012; 111(6):2403-10.
 44. Lu VL, Olu E. Peculicidal activity of plants essential oils and their based preparations. Med Parazital Parazitarnye Bolezni 2014; 2:37-42.
 45. Prajapati V, Tripathi AK, Aggarwal KK i wsp. Insecticidal repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. Bioresource Technol 2005; 96(16):1749-57.
 46. Erler F, Ulung I, Yalcinkaya B. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. Fitoter 2006; 77(7/8):491-4.
 47. Tune I, Berger BM, Erlev F i wsp. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. J Stored Prod Res 2000; 36(2):161-8.
 48. Benelli G, Canale A, Afshar FH i wsp. Synergized mixtures of *Apiaceae* essential oils and related plant-borne compounds: Larvicidal effectiveness on the filariasis vector *Culex quinquefasciatus* Say. Ind Crops Prod 2017; 96:186-95.
 49. Janssen AM, Chin NLJ, Scheffer JJC. Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique. Pharm Weekbl Sci 1986; 8:289-92.
 50. Morris JA, Khetry A, Seitz EW. Antimicrobial activity of aroma chemicals and essential oils. J Am Oil Chem Soc 1979; 56:595-603.
 51. Parabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. *In vitro* antibacterial activity of some essential oils. BCM Complemen Alt Med 2006; 6:39-46.
 52. Kędzia B, Hólderna-Kędzia E. Badania wpływu olejków eterycznych na bakterie, grzyby i dermatofity chorobotwórcze dla człowieka. Post Fitoter 2007; 2:71-7.
 53. Si W, Gong J, Tsao R i wsp. Antimicrobial activity of essential oils and structurally related synthetic food additives towards selected pathogenic and beneficial gut bacteria. J Appl Microbiol 2006; 100:296-305.

Konflikt interesów**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 11.01.2018

zaakceptowano/accepted: 30.01.2018

Adres/address:

*prof. dr hab. n. med. Anna Kędzia
ul. Małchowskiego 5/5,
80-262 Gdańsk Wrzeszcz
e-mail: anak@gumed.edu.pl