

**Seminarski rad dipl. Ph. Vere Dabanović, diplomirani farmaceut i
specijalista farmakoeconomije i farmaceutske legislative**

Tema: Farmakokinetika karvakrola i timola

SAŽETAK

Odnos između profila koncentracije lijeka postignutih u različitim djelovima organizma, u toku i nakon primjene lijeka, označava se kao farmakokinetika ("djelovanje organizma na lijek"). Farmakokinetički procesi kojima lijek u organizmu podliježe su: apsorpcija, raspodjela, metabolizam i izlučivanje. Poznavanjem farmakokinetičkih procesa sagledava se adekvatan oblik lijeka, način primjene, doza i intervali doziranja, dužina primjene, uticaj bioloških faktora, primjena sa drugim lijekovima, ...

Karvakrol (5-izopropil-2-metilfenol) i timol (2-izopropil-5-metilfenol) su izomeri i predstavljaju monoterpenne fenole sa jakim antiseptičkim dejstvom. Zbog svog dejstva imaju višestruku primjenu. Stoga je neophodno sagledati njihovu farmakokinetiku. Saznanja o farmakokinetici karvakrola i timola su mala. Studijama je dokazano da se brzo apsorbuju nakon peroralne primjene u proksimalnom dijelu tankog crijeva. Glavni metabolički put je esterifikacija fenolne grupe sa sumpornom i glukuronskom kiselinom. Izlučuju se urinom i to u roku od 24h. Većim dijelom se izlučuju kao konjugati sumporne i glukuronske kiseline a jednim dijelom se izlučuju i u nemetabolisanom obliku.

Imaju veliku primjenu u prevenciji i liječenju, naročito karvakrol. Kliničke studije su potvrdile njegovo antiseptičko, baktericidno, anthelmintičko, antimikotičko, antioksidansno, antiinflamatorno, anksiolitičko, citostatičko, hipoglikemično, spazmolitičko dejstvo sa veoma malo neželjenih efekata.

1.0. UVOD

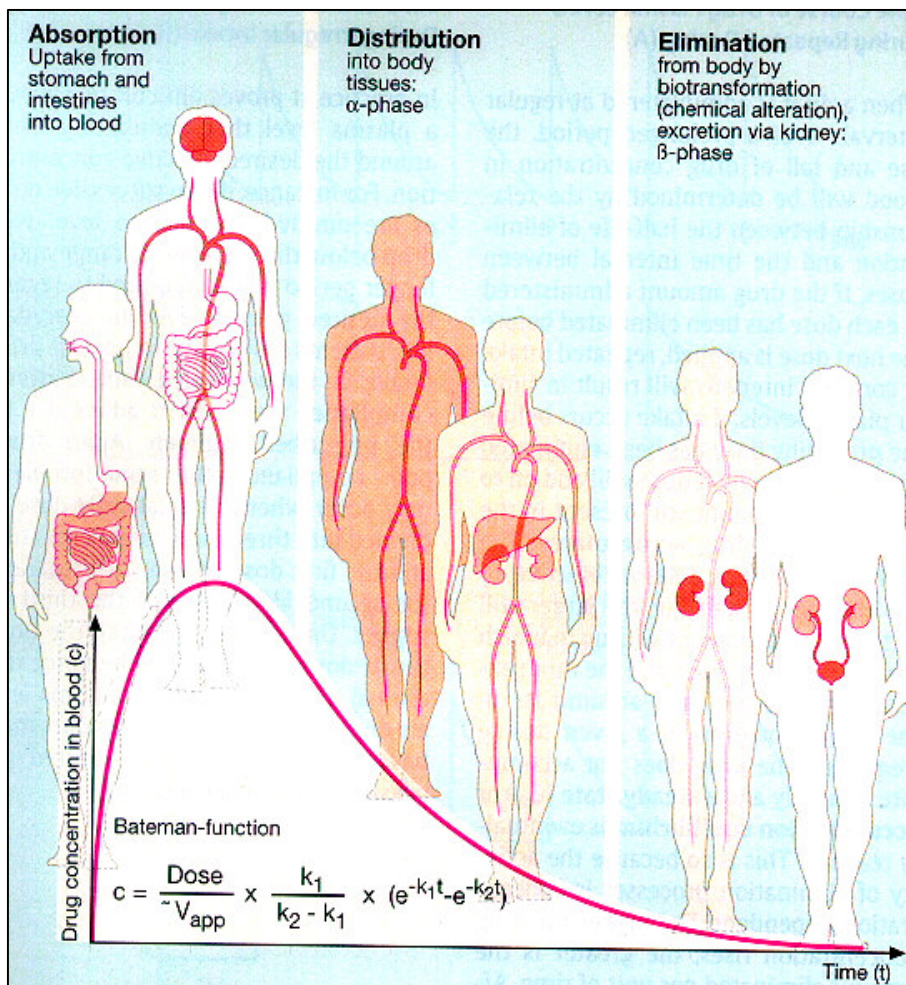
1.1. Farmakokinetika

Dok svakoga ko propisuje lijekove mora zanimati „ono” što lijek čini, za one čiji intelektualni interes ne leži u ovom području nije lako da budu zainteresovani za farmakokinetiku. Ipak bez primjene ovog aspekta farmakološkog znanja, veoma dobro odabrani lijek može biti bez učinka na bolesnika ili mu može nauditi. (Laurence, 1980)

Farmakokinetika je relativno mlada nauka koja izučava kretanje koncentracije lijekova i njihovih metabolita u organizmu u funkciji vremena. Ponašanje, odnosno sudbina lijekova, u organizmu se opisuje farmakokinetičkim parametrima Apsorpcije, Distribucije, Metabolizma i Ekskrecije – ADME sistem (Slika 1), i kvantitativno se izražava farmakokinetičkim parametrima. Parametri su konstante ali mogu da se razlikuju od bolesnika do bolesnika (interindividualne) i kod istog bolesnika pod različitim uslovima (intraindividualne). Zbog individualnih razlika lijekovi se moraju primjenjivati prema individualnim potrebama bolesnika: tradicionalno – empirijskim prilagođavanjem doziranja, što je često neadekvatno. Primjena lijekova na osnovu očekivane resorpcije i dispozicije (distribucije i eliminacije) je savremeni farmakokinetički pristup, u kojem se režim doziranja prilagođava praćenjem koncentracija lijeka u plazmi i njihovih efekata (terapijski monitoring). Terapijski monitoring može da se vrši mjerenjem koncentracijama lijekova ili njihovih metabolita u plazmi ili indirektno, preko određenih biohemijskih ili kliničkih parametara.

1.2. Osnovni farmakokinetički parametri

Osnovni farmakokinetički parametri su faktori kojima se procjenjuju stepen i brzina farmakokinetičkih procesa ADME.



Slika 1. ADME

Za procjenu apsorpcije koriste se konstanta brzine apsorpcije (brzina) i površina ispod krive (AUC) ili biološka raspoloživost (i stepen i brzina procesa).

Raspodjelu lijeka procjenjuju odgovarajuće konstante brzine raspodjele (brzina) i prividni volumen raspodjele (stepen procesa). Za određene terapijske ciljeve određuje se i frakcija nevezanog (slobodnog) lijeka za proteine plazme.

Proces eliminacije (metabolizma i izlučivanja) procjenjuje se sljedećim farmakokinetičkim parametrima: konstanta brzine eliminacije, odnosno poluvrijeme eliminacije i klirens lijeka. Za određene farmaceutske oblike (depo oblici) i određene načine primjene, pogodniji parametar je srednje vrijeme zadržavanja lijeka (prosječno vrijeme zadržavanje molekula lijeka, tj. vrijeme potrebno i za resorpciju i za eliminaciju lijeka) ili procenat fluktuacije između minimalne (C_{min}) i maksimalne (C_{max}) koncentracije u stanju ravnoteže.

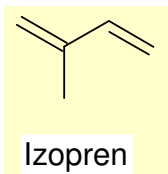
Od navedenih parametara, za određivanje i korigovanje režima doziranja lijekova, koriste se tri sljedeća farmakokinetička parametra:

1. Volumen distribucije – V_d (hipotetička zapremina tjelesne tečnosti potrebna da lijek bude u istoj koncentraciji u kojoj je u plazmi) je parameter koji određuje početnu (inicijalnu) dozu lijeka; $D_i = V_d \times C_{ss}$
2. Klirens – CL (hipotetička zapremina tjelesne tečnosti koja se potpuno očisti od lijeka putevima eliminacije u jedinici vremena) je parametar koji izjednačava brzinu primjene lijeka sa brzinom njegove eliminacije i određuje dozu održavanja lijeka; $D_o = C_l \times C_{ss}$
3. Poluvrijeme eliminacije - $t_{1/2}$ (vrijeme potrebno da koncentracija lijeka u krvi/plazmi opadne na polovinu svoje vrijednosti po uspostavljanju dinamičke ravnoteže o organizmu) je parametar koji određuje vrijeme za postzanje stanja ravnoteže, kao i interval doziranja lijeka (ne smije biti manji od $t_{1/2}$)

Varijabilnost vrijednosti farmakokinetičkih parametara može biti prouzrokovana velikim brojem faktora (fiziološki, patološki, spoljašnji, interakcije lijekova, nelinearna farmakokinetika) koje treba uzeti u razmatranje pri individualnom prilagođavanju režima doziranja lijekova. Čak i u tom slučaju često ostaje dovoljno razloga za varijabilnost, tako da je u cilju sprovođenja racionalne (efikasne, bezbijedne i ekonomski opravdane) farmakoterapije potrebno praćenje postignutih efekata a u slučajevima idikovanim za terapijski monitoring i mjerenje i farmakokinetička procjena koncentracija lijeka u plazmi, što je zadatak kliničkog farmaceuta. (Ugrešić i sar, 2008)

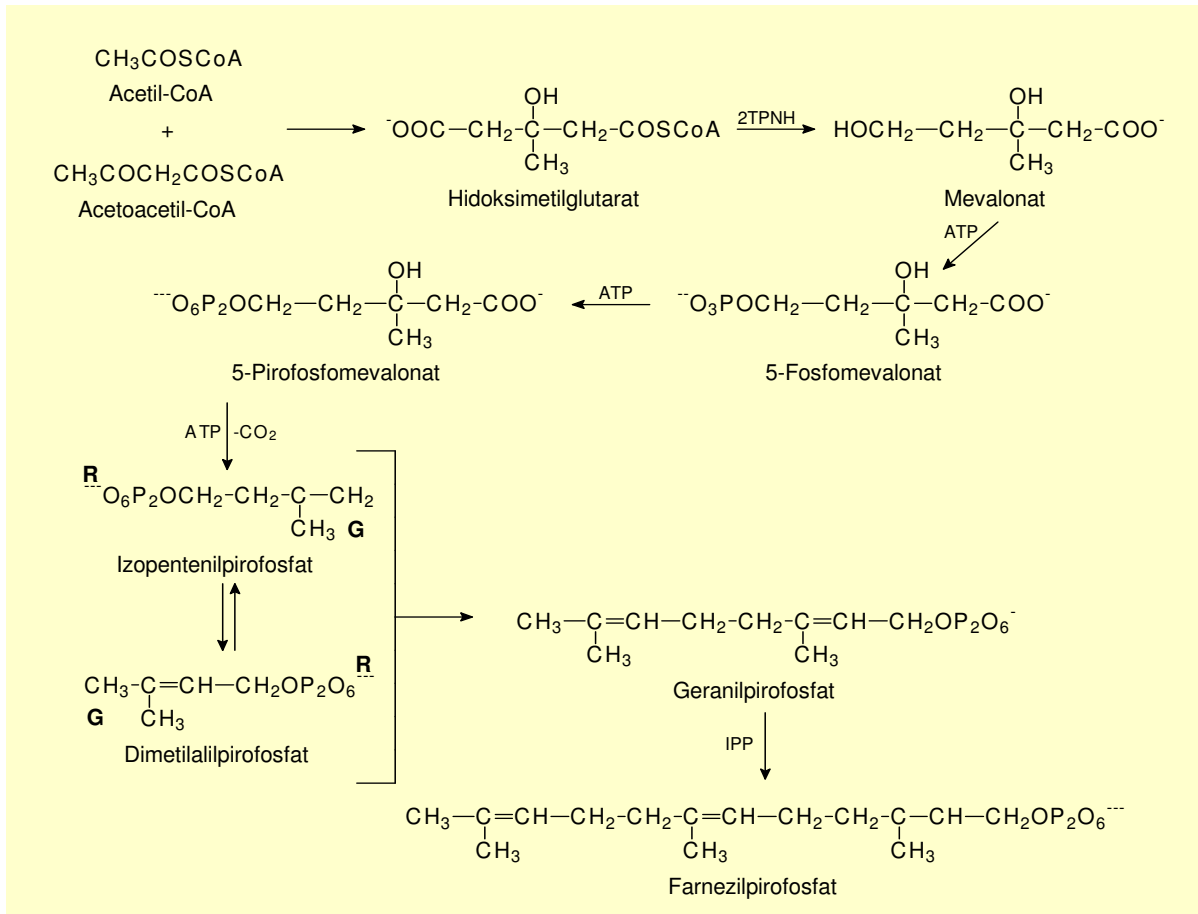
1.3. Monoterpeni

Terpeni (terpenoidi, izoprenoidi) predstavljaju najbrojniju grupu sekundarnih metabolita biljaka. To su prirodna jedinjenja koja nastaju "izoprenskim biosintetskim putem" od aktivnih C5-jedinica, tj. "aktivnog izoprena", izopentenilpirofosfata (IPP) i njegovog izomera dimetilalilpirofosfata (DMAPP).



Slika 2. Izopren

Iz aktivirane mevalonske kiseline (3,5-dihidroksi-3-metil-valerijanske kiseline) nastaje izopentenilpirofosfat (IPP) i njegov tautomer dimetilalilpirofosfat (DMAPP). DMAPP predstavlja početnu jedinicu na koju se adira IPP. Ovakvim povezivanjem (glava-rep) nastaju najjednostavniji fosforilovani (C₅)_n alkoholi - geranilpirofosfat (GPP) kao prekursor monoterpena sa 10 ugljenikovih atoma (Slika 3). (Kovačević, 1999)



Slika 3. Formiranje aktiviranih C5 jedinica

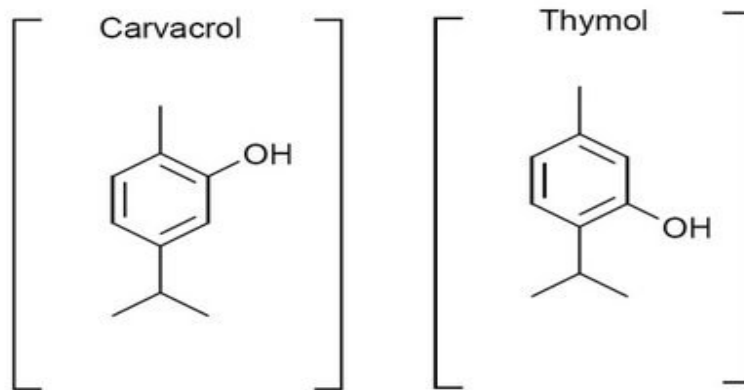
1.4. Karvakrol i timol

Karvakrol (5-izopropil-2-metilfenol) i timol (2-izopropil-5-metilfenol) su izomeri i predstavljaju monoterpenске fenole koji su prisutni u eteričnim uljima mnogih biljaka iz porodice *Labiatae*:

- Thymus vulgaris*
- Thymus serpyllum*
- Origanum vulgare*
- Satureja thymbra*
- Thymbra capitata*

Majčina dušica i timijan su omiljeni lijekovi i u narodnoj i u naučnoj medicini. Vjekovima se upotrebljavaju za liječenje organa za disanje i varenje. Nakon saznanja da su glavnodjelujuće komponente ovih biljaka karvakrol i timol, naučna

medicina je istraživala osobine i mehanizam njihovog dejstva. Danas se zna da ove supstance imaju višestruko djelovanje, što je potvrđeno kliničkim studijama.



Slika 4. Strukturne formule karvakrola i timola

2.0. CILJ

Ciljevi rada su:

1. Pregled fizičko-hemijskih osobina karvakrola i timola na osnovu kojih se mogu sagledati njihova aktivnost i procesi razgradnje
2. Na osnovu sprovedenih studija prikazati farmakokinetičke procese – apsorpciju, distribuciju, metabolizam i ekskreciju karvakrola i timola
3. Analizom studija sagledati farmakološki aspekt terapije karvakrolom i timolom

3.0. MATERIJALI I METODE

Za prikupljanje podataka o karvakrolu i timolu, farmakokinetici, farmakološkim tretmanima i rezultatima kliničkih istraživanja djelotvornosti i neželjenih dejstava, poslužilo je nekoliko izvora informacija.

Najviše podataka je prikupljeno pretraživanjem velikih baza podataka MEDILINE i EMBASE. U ovim bazama podataka su traženi:

- Pregledni članci koji se odnose na karvakrol i timol
- Kliničke studije u kojima su vršena ispitivanja o farmakokinetici, djelotvornosti i neželjenim efektima karvakrola i timola.

Svaki pronađen rad je pregledan i dodatno analiziran.

4.0. Karvakrol i timol

4.1. Fizičko-hemijske osobine karvakrola i timola

Timol predstavlja bezbojne velike kristale, mirisa na timijan, aromatičnog i ljutog ukusa. Zagrijavanjem se topi i sublimuje. U vodi se ne rastvara a lako se rastvara u etanolu, hloroformu, masnim i etarskim uljima. Rastvara se i u bazama (NaOH) gradeći fenolat.

Karvakrol je bezbojna do blijedo žuta, zapaljiva, viskozna, uljasta tečnost na temperaturi 20°C. Mirisa je karakterističnog na origano i oporog ukusa. Kristališe na nižim temperaturama, tačka topljenja je 0°C a tačka ključanja je 236-237°C.

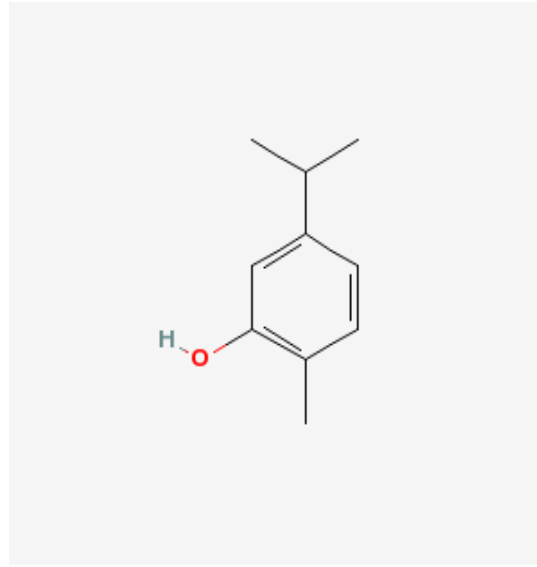
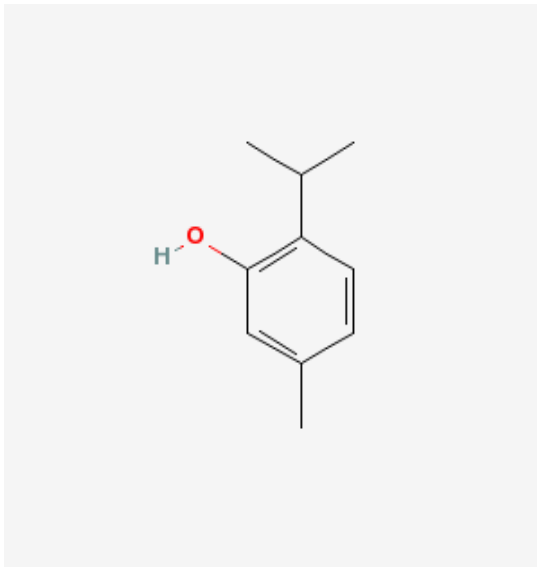
Rastvorljiv je u etanolu, etil-etu, propilen glikolu i bazama a nerastvorljiv u vodi. Oksidacijom sa feri-hloridom karvakrol prelazi u dikarvakrol.

Iako su timol i karvakrol izomeri koji imaju identične sve hemijske parametre, osim male razlike u lipofilnosti (slika 4), pokazuju različitu hemijsku reaktivnost. To je posljedica položaja izopropil grupe u odnosu na hidroksilnu grupu. Kod timola izopropil grupa se nalazi u orto položaju, jače odbija elektrone od metil grupe i ugljenik za koji je vezana hidroksilna grupa ima manju potrebu da privlači elektrone. Takođe su jači sterni efekti izopropil grupe u odnosu na metil grupu i sve to čini hidroksilnu grupu manje reaktivnom. Tako da je, sa hemijske tačke gledišta, karvakrol reaktivniji od timola.

Klinička studija (Edwin et al, 2006) je pokazala značaj hidroksilne grupe na aktivnost karvakrola. Efekat hidroksilne grupe nije mogao biti upoređen u odnosu na p-cimen zbog različitih fizičko-hemijskih osobina ova dva jedinjenja, pa se u ovom ispitivanju koristio 2-amino-p-cimen koji je analogan karvakrolu (slična hidrofobnost i strukturne karakteristike, slična antimikrobna aktivnost na bakterijske membrane, koja pokazuje da za aktivnost karvakrola nije neophodna sama po sebi hidroksilna grupa). Studija je pokazala da karvakrol ima 3 puta veću aktivnost u odnosu na 2-amino-p-cimen, što navodi na zaključak da hidroksilna grupa pojačava antimikrobno dejstvo karvakrola.

Timol

Karvakrol



Molecular Weight	150.21756 [g/mol]
Molecular Formula	C ₁₀ H ₁₄ O
XLogP3	3.3
H-Bond Donor	1
H-Bond Acceptor	1
Rotatable Bond Count	1
Tautomer Count	9
Exact Mass	150.104465
Monoisotopic Mass	150.104465
Topological Polar Surface Area	20.2
Heavy Atom Count	11
Formal Charge	0
Complexity	120
Isotope Atom Count	0
Defined Atom StereoCenter Count	0
Undefined Atom StereoCenter Count	0
Defined Bond StereoCenter Count	0
Undefined Bond StereoCenter Count	0
Covalently-Bonded Unit Count	1

Molecular Weight	150.21756 [g/mol]
Molecular Formula	C ₁₀ H ₁₄ O
XLogP3	3.1
H-Bond Donor	1
H-Bond Acceptor	1
Rotatable Bond Count	1
Tautomer Count	9
Exact Mass	150.104465
Monoisotopic Mass	150.104465
Topological Polar Surface Area	20.2
Heavy Atom Count	11
Formal Charge	0
Complexity	120
Isotope Atom Count	0
Defined Atom StereoCenter Count	0
Undefined Atom StereoCenter Count	0
Defined Bond StereoCenter Count	0
Undefined Bond StereoCenter Count	0
Covalently-Bonded Unit Count	1

Slika 5. Hemijski parametri timola i karvakrola (chemindustry)

4.2. Dobijanje karvakrola i timola

Karvakrol i timol se mogu dobiti na dva načina:

- Ekstrakcijom iz biljnih droga
- Sintetskim putem

4.2.1. Ekstrakcija iz biljnih droga

Iz biljnih sirovina, destilacijom pomoću vodene pare, dobija se najprije etarsko ulje određene droge, koje se obrađuje vodenim rastvorom baze (NaOH) pri čemu fenoli grade hidrosolubilne fenolate. Iz vodenog rastvora fenolata dodatkom kiseline (HCl) izdvajaju se fenoli. Iz tečne mase timol kao stearopten iskristalizuje, a karvakrol kao eleopten ostaje tečan. Prilikom izdvajanja ovih monoterpena treba naglasiti da karvakrol otežava kristalizaciju timola. (Lukić, 2001)

4.2.1.1. Biljne droge kao sirovine za dobijanje karvakrola i timola

Thymus vulgaris-Labiatae

Izgled biljke: Timijan je polužbunasta, višegodišnja, zeljasta biljka. Donji djelovi stabljike su drvenasti, gornji zeljasti dužine oko 20-30 cm. Listovi su na kratkim lisnim drškama, naspramno postavljeni, ravnog, unazad povijenog oboda, sivodlakavi sa donje strane. Dugi 5-10 mm, 2-3 mm široki, kožasti, tamno zelene boje na licu. Cvasti se nalaze na vrhu izdanaka i izdužene su. Časica je cjevasta, trbusasto proširena sa trouglastim zupcima. Krunica je roze do ljubičasta. Svi djelovi cvijeta prekriveni mehaničkim dlakama i žlijezdama.

Droga: Kao droga se koristi osušeni list timijana-*Thymi folium* i etarsko ulje. List se sakuplja u fazi pred cvjetanje gajenih biljaka. Odsijecaju se vršni djelovi biljke, prečiste i suše. Listovi se odvajaju od stabljika i sortiraju prosijavanjem. Sušenjem se savijaju ka nailčju, tako da dobijaju igličast oblik. Ukusa je nagorkog

i ljutog a mirisa specifičnog aromatičnog, pomalo oštrog. Etarsko ulje timijana, *Thymi aetheroleum*, dobija se iz svježih listova i herbe timijana, destilacijom vodenom parom. To je lako pokretljiva žutocrvena tečnost, ljutog ukusa i specifičnog, aromatičnog, fenolnog mirisa. (Kovačević, 1999)



Thymus vulgaris L.
Image processed by Thomas Schoepke
www.plant-pictures.de

Slika 6. Thymus vulgaris

Hemijski sastav: List timijana sadrži do 3% etarskog ulja. Glavni sastojci ulja su monoterpeni fenoli, timol i karvakrol. U ulju ima do 50% ukupnih fenola

računato kao timol. Neki propisi zahtijevaju 0.5% ukupnih fenola u drogi. Pored njih, u ulju su zastupljeni i drugi monoterpeni: metiletar timola, cineol i linalol, geraniol, trans-tujanol, gama-terpineol, alfa-terpineol. Pored etarskog ulja, ova droga sadrži značajnu količinu heterozida flavonoida, fenolkarbonske kiseline i njihove derivate kao i tanine. (Kovačević, 1999)

***Thymus serpyllum*-Labiatae**



Thymus serpyllum L.
Image processed by Thomas Schoepke
www.plant-pictures.de

Slika 7. Majčina dušica

Izgled biljke: Majčina dušica je višegodišnja zeljasta biljka koja raste kao polugrmic na sušnoj podlozi, najčešće pored puteva, po pašnjacima, livadama i šumama. Stabljika je visine od 20 do 30 cm. Listovi su sitni, od 0,5 do 1,5 cm, jajasti, okrugli, po obodu cijeli, sa kratkom drškom i dlakavi (to su žljezdane dlake bogate etarskim uljem). Biljka cvjeta tokom cijelog ljeta, cvjetovi su skupljeni u guste okruglaste cvasti i slični su cvjetovima timijana, bijeloružičaste ili ljubičastocrvene boje, sitni i dvousnati, jakog i ugodnog mirisa.

Droga: Kao droga se koristi nadzemni dio biljke - *Serpylli herba*. Svježa herba se koristi za ekstrakciju etarskog ulja, a suva se koristi sama ili kao sastavni dio čajnih mješavina i ima veliku upotrebu u narodnoj medicini.

Hemijski sastav: Droga sadrži oko 1% etarskog ulja koje, kao i ulje timijana, sadrži fenole ali više karvakrola, monoterpen cimen, zatim 5% tanina, izvjesnu kolicinu gorkih materija, soli, kiselina i malo saponozida. (Tucakov, 1990)

Origanum vulgare-Labiatae

Očvrsnula, žbunasta, višegodišnja biljka, koja dostiže visinu do 90 cm, sa uspravnom, dlakavom stabljikom, tamno-zelenim ovalnim listovima i roze-purpurnim cvjetovima. Kao droga se koristi nadzemni dio biljke u cvijetu – *Origanum herba*. Etarsko ulje se dobija destilacijom pomoću vodene pare suve biljke sa cvjetovima. To je blijedo-žuta tečnost (tamni godinama), prijatnog, specifičnog mirisa. Glavni sastojci: karvakrol (60-80%), timol, cimen, kariofilen, pinen, bisabolen, linalol, borneol, geranil acetat, linalil acetat, terpinen.



Slika 8. Origano

4.2.2. Dobijanje karvakrola sintetskim putem

Karvakrol se može i sintetski pripremiti i to na nekoliko načina:

- Reakcijom azotne kiseline i 1-metil-2-amino-4-propil benzena, fuzijom cimol sulfonske kiseline, dugotrajnim grijanjem pet dijelova kamfora i jednog dijela joda
- Zagrijavanjem karvola sa glacijalnom fosforom kiselinom
- Dehidrogenacijom karvona sa PD/C katalizatorom (Chemindustry)
- Alkilacijom o-krezola sa izopropil alkoholom uz prisustvo visokoselektivnog i aktivnog redoks katalizatora UDCaT-5 (University

Department of Chemical Technology series catalyst), 2h na temperaturi 180°C. (Yadav, 2009)

4.3. Farmakokinetika karvakrola i timola

Karvakrol i timol se mogu primjenjivati oralno, topikalno i putem inhalacije. Primjenjuju se u obliku farmaceutskih ekstraktivnih preparata (tečni ekstrakti, suvi ekstrakti, tinkture, čajevi) i eteričnih ulja, koji ulaze u sastav različitih farmaceutskih oblika (kapsula, masti, sirupa,...). Danas najveću upotrebu ima ulje origana, koje u svom sastavu ima visok procenat karvakrola (do 95%).

4.3.1. Farmakokinetika karvakrola

Apsorpcija

Podaci o farmakokinetici eteričnih ulja su malo dostupni. Schröder i Vollmer (1932) su opisali da se nakon oralne primjene timol i karvakrol veoma brzo apsorbuju i izlučuju putem metabolita ili nepromijenjeni u roku od jednog dana. (Franz et al, 2005)

Apsorpciju i kinetiku etarskog ulja nakon peroralne primjene koje sadrži karvakrol, timol, eugenol i trans-cinamaldehyd ispitivali su Michiels i saradnici na svinjama *in vitro* i *in vivo*. *In vitro* ispitivanje je vršeno na simuliranom želucu svinja i ustanovljeno je da se ulje nije značajno apsorbovalo u želucu i proksimalnom dijelu tankog crijeva. Apsorbovali su se jednim dijelom u distalnom segmentu GIT-a. U *in vivo* ispitivanju je ustanovljeno da se ulje veoma brzo i skoro u potpunosti apsorbovalo u želucu i proksimalnom dijelu tankog crijeva. Ukupni poluživot u digestivnom traktu se kretao između 1,84h i 2,05h, pri čemu je trans-cinamaldehyd pokazao najbrži nestanak iz GIT-a. Maksimalna koncentracija

u plazmi karvakrola se postigla za 1.39h, timola za 1.35h a eugenola za 0.83h. (Michiels et al, 2008)

Apsorpciju karvakrola poboljšava limonen, tako da ova kombinacija ima izuzetno dobre antimikrobne efekte. (Carvacrol oil)

Za liječenje infekcija izazvane bakterijom *Escherichia coli* a u cilju zadržavanja antimikrobne aktivnosti u tankom crijevu, u ispitivanju, koje su vršili Wang i saradnici, ispitivano je etarsko ulje karvakrola zatvoreno u mikrokapsulama od kalcijum-alginata. U ispitivanju je upotrijebljen simulirani gastrointestinalni model svinja. Manje od 20% mikrokapsula se rastvorilo u želudačnom soku a ostatak se polako oslobađao u crijevnoj tečnosti nakon 6h inkubacije. Ovom studijom je dokazano da se inkapsulacijom karvakrola u mikrokapsulama od kalcijum-alginata može efikasno smanjiti rana apsorpcija karvakrola u gornjem dijelu gastrointestinalnog trakta, nakon oralne primjene, i zadržati svoj potencijal antibakterijske aktivnosti u tankom crijevu. (Wang et al, 2009)

Metabolizam i izlučivanje

Karvakrol se brzo metaboliše, ne podliježe prvoj fazi biotransformacije, već se direktno vrši konjugacija sa sumpornom i glukuronskom kiselinom.

Metabolizam karvakrola je ispitivan na pacovima metodom gasne hromatografije i spektrofotometrijskim metodama. Metaboliti su kvantifikovani u urinu. Glavni metabolički put je esterifikacija fenolne grupe sa sumpornom i glukuronskom kiselinom. Takođe se javljaju metaboliti koji nastaju oksidacijom terminalne metil i izopropil grupe i tom prilikom nastaju derivati benzil alkohola, 2-fenilpropanol i odgovarajuće karboksilne kiseline. Jednim dijelom se izlučuje i u nemetabolisanom obliku. (Austgulen, 1987)

Izlučuje se urinom i to u roku od 24h. U urinu se detektuje najveći procenat sulfat konjugata (oko 25%).

4.3.2. Farmakokinetika timola

Takada i saradnici (1979) su ispitivali metabolizam timola kod zečeva i ljudi. Nakon 24h kod zečeva je identifikovan u urinu timol-glukuronid i nemetabolisani timol. Međutim, kod ljudi je za isto vrijeme identifikovan u urinu timolhidrokinon, za koji se pretpostavlja da je estar sumporne kiseline. (Franz et al, 2005)

Nakon primjene doze od 1,08mg timola, u ljudskoj krvnoj plazmi se samo može detektovati sulfatni konjugat i to 20 minuta nakon primjene. Maksimalna koncentracija u plazmi se postiže nakon 2h. Izlučuje se urinom najkasnije za 24h. Poluvrijeme eliminacije je 10,2h. (Emea, 2008)

4.3.3. Toksičnost karvakrola

Ispitivana je toksična doza karvakrola i ona je različita kako za čovjeka, tako i za različite životinjske vrste, što je prikazano u tabeli 1:

Tabela 1.

vrsta	mačka	pas	žaba	miš	miš	zec	zec	zec	pacov	čovjek
primjena	per os	iv	sc	iv	sc	Per os	sc	topikalno	Per os	Per os
Doza mg/kg	100	310	75	80	680	100	1000	2700	810	50-500

4.3.4. Preporučene doze karvakrola

Maksimalan dnevni unos karvakrola kod oralne upotrebe je 14 µg. Ako se upotrebljava u obliku standardizovanih uljanih kapi origana, doza je 14 kapi u 2g vode.

Kod topikalne primjene, maksimalna koncentracija karvakrola u preparatima je 4%.

Ako se upotrebljava u obliku para (inhalatorno), maksimalni dnevni unos je 28 kapi u 2-3g veoma vruće (ne ključale) vode.

4.4. Farmakodinamika karvakrola i timola

Monoterpenški fenoli - karvakrol i timol imaju sve veću primjenu kako u narodnoj tako i u naučnoj medicini, zbog svog višestrukog dejstva i veoma malo neželjenih efekata. Oni su predmet dubljeg istraživanja poslednjih godina i mnoge kliničke studije su dokazale njihovu upotrebu kod liječenja raznih oboljenja kao i primjenu u profilaksi i svakodnevnom životu.

Mehniizam dejstva i terapijsku primjenu (kao antiseptici, baktericidi, antiviroci, anthelmintici, antimikotici, antioksidansi, antiinflamatorici, anksiolitici, citostatici, hipoglikemici, spazmolitici) potvrđuju sledeće studije.

Karvakrol je hidrofoban a njegov biološki prethodnik - cimen, koji nema hidroksilnu grupu, ima veći afinitet za lipidne membrane. Međutim, studije su pokazale da je mnogo veći uticaj karvakrola na membranski potencijal u odnosu ca cimen. U ovoj studiji je upotrijebljeno ulje origana sa 60-70% karvakrola na patogen *Bacillus cereus*. Koncentracija karvakrola u dozi od 1mM (mmol/g) je djelovala bakteriostatski dok je koncentracija iznad 1mM dovela do porasta fluidnosti membrane i izlaska jona kalijuma što je dovelo do snižavanja pH gradijenta (ΔpH) citoplazmatskih membrana, pada membranskog potencijala i inhibicije sinteze ATP, i samim tim do ćelijske smrti. Ovaj efekat se objašnjava prisustvom hidroksilne grupe i sistema delokalizovanih elektrona. Zbog svog hidrofobnog karaktera, karvakrol se dodatno akumulirao u ćelijskoj membrani. (Ultee et al, 2002)

Liječenje stafilokoknih infekcija nije uvijek uspješno zbog njihove sposobnosti da formiraju biofilmove. Biofilmovi su manje osjetljivi na konvencionalnu terapiju iz razloga što antimikrobni lijekovi ne mogu da prodru u biofilm. Nostro i saradnici su upoređivali efekte origano ulja (karvakrol:timol = 14%:24,7%), čistog karvakrola (97%) i čistog timola (99%) na planktonski *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermitis* i na njihove biofilmove (in vitro). Rezultati su iskazani

mjerenjem minimalnih baktericidnih koncentracija (MBC), minimalnih inhibitornih koncentracija (MIC - najniža koncentracija gdje nema rasta bakterija) i biofilm inhibitornih koncentracija BIC) na planktonske ćelije. U kulturi biofilmova mjerene su MIC. Upoređivanjem dobijenih vrijednosti, utvrđeno je da karvakrol ima najače inhibitorne efekte kako na stvaranje biofilmova (BIC) u planktonu, tako i na već stvorene biofilmove. (Nostro et al, 2006).

Da karvakrol ima antimikrobno dejstvo, na Institutu za Biološka istraživanja "Siniša Stanković" iz Beograda, je dokazano da je Origano ulje najdelotvornije protiv bakterija *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus flavus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*. Isto istraživanje je dokazalo da je karvakrol supstanca koja ima najjača antibakterijska svojstva. Prilikom ovih istraživanja korišćeno je ulje iz biljke *Origanum Vulgare* sa 64,5% karvakrola. 2001. godine, na univerzitetu Džordžtaun u Vašingtonu, profesor fiziologije Hari Preuss je sproveo istraživanje i testirao ulje origana na bakterije *Staphylococcus*, koja je odgovorna za niz teških infekcija i postaje rezistentna na mnoge antibiotike. On je uporedio efekat origano ulja u odnosu na standardne antibiotike streptomycin, penicilin i vaknomicin. Origano ulje u relativno malim dozama je sprječavalo rast bakterija stafilokoka u epruveti, efikasno kao standardni antibiotici. Jedna od prednosti eteričnih ulja je da bakterije ne razvijaju rezistenciju na eterična ulja.

Dr. E. Gildemeister i F.R. Hofman navode u knjizi, kao ispitivanje antimikrobne efikasnosti pojedinih eteričnih ulja u odnosu na fenol. Ispitivanja su pokazala da je ulje origana najdelotvornije antimikrobno eterično ulje testirano od strane istraživača - 21 puta jače nego fenol. (Baltik Junior)

Prema saopštenju Svetske zdravstvene organizacije *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Escherichia coli* se smatraju bakterijama-ubicama, pošto su rezistente i na veliki broj antibiotika, sintetičkih i semi-sintetičkih. Sposobnost patogenih bakterija da mutiraju i postaju rezistentne na dejstvo

antibiotika je u poslednjih 15 godina dostiglo alarmantni porast. Sve više prisutan problem antibiotik-rezistentnih bakterija, neželjenih efekata antibiotika (poremećaj crijevne flore), a i sve veća zainteresovanost za prirodne antibiotike dovela je do ponovnog vrednovanja i razmatranja fitoterapeutskog lečenja bakterijskih infekcija. Povećani interes za esencijalnim uljem origana kao prirodnog antibiotika proizilazi iz činjenice da vrsta se ova biljna odlikuje ogromnom biološkom aktivnošću, neškodljivim dejstvom na fiziološke „dobre“ bakterije (one koje nam pomažu u varenju hrane, sintezi vitamina, regulaciji pH kože i vaginalnog epitela), neindukovanjem rezistentnosti bakterija i posjedovanjem duge etnofarmakološke istorije. Esencijalno ulje origana svojim baktericidnim dejstvom može da se koristi i u preventivne svrhe, jer je u stanju da „očisti“ gastrointestinalni trakt uništavajući patogene bakterije i time favorizuje rast i razmnožavanje bakterija fiziološke flore, čime poboljšava odbrambeni sistem organizma.

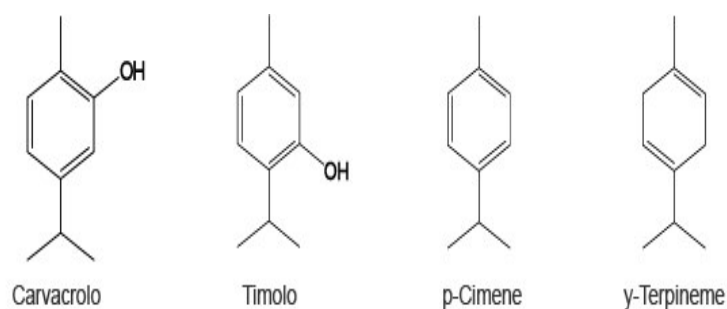
Časopis „Scientific American“ u izdanju iz oktobra 2001. prenosi sledeće:

Ulje origana protiv infekcija

Harry G. Preuss sa „Georgetown University Medical Center“ i njegovi saradnici sa „North American Herb and Spice“ su otkrili da je esencijalno ulje origana odličan lijek protiv opasnih bakterija koje su često otporne na antibiotike. Naučnici su izvršili veliki broj eksperimenata „in vitro“ i „in vivo“ dokazavši da je esencijalno ulje origana, odnosno karvakrol koje ono sadrži, izuzetno biološki aktivno, što znači da je u stanju da se bori protiv infekcija isto toliko koliko to čine i tradicionalni antibiotici. Rezultati ovih naučnih istraživanja su objavljeni na kongresu „American College of Nutrition“. Naučnici su tokom svojih eksperimenata utvrđivali biološku aktivnost esencijalnog ulja na stafilokoke, koje su sve otpornije na antibiotike i odgovorne za različite i brojne infekcije. Esencijalno ulje je pokazalo „in vitro“ istu biološku aktivnost koju posjeduju standardni antibiotici kao što su streptomycin, penicilin i vankomicin, upotijebljeni

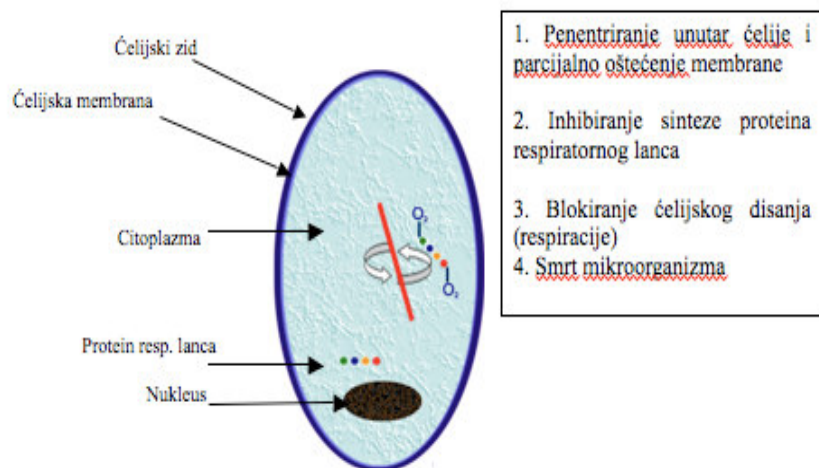
kao referentni lijekovi u eksperimentu. U okviru eksperimenta „in vivo“ je korišćeno 18 laboratorijskih miševa, podjeljenih u tri grupe, a svakoj grupi je ubrizgana različita biološki aktivna supstanca: prvoj grupi je ubrizgan vankomicin, drugoj esencijalno ulje origana, dok je trećoj grupi ubrizgan samo karvakrol. Zaključili su da esencijalno ulje usporava infekciju isto koliko i tradicionalni antibiotik vankomicin. Grupa laboratorijskih miševa tretirana samo karvakrolom je dala slabije rezultate, što navodi na činjenicu da esencijalno ulje origana sadrži i druga biološki aktivna jedinjenja koja pokazuju sinergizam, odnosno kombinovano biološko dejstvo. Iako je sada dosta nezamislivo da ulje origana zamijeni tradicionalne antibiotike, ono se može koristiti u preventivne svrhe ili kao dodatak uobičajenoj terapiji.

Kapsule Escoli (Escoli Forte® i Escoli®) sadrže esencijalno ulje origana, bogato u svom sastavu fenolnim isparljivim jedinjenjima (karvakrol i timol) i njihovim monoterpenskim prekursorima (p-cimen i γ -terpinen). Visoke koncentracije ovih aktivnih jedinjenja su veoma bitne, jer od njih zavisi biološka aktivnost ekstrakta. Visoka koncentracija karvakrola garantuje jaku biološku aktivnost, koja je potencirana prisustvom timola i njihovih prekursora, p-cimena i γ -terpinena, koji zajedno ispoljavaju veoma važan sinergizam u biološkom delovanju esencijalnog ulja.



Karvakrol i timol, prirodni antibiotici, za razliku od brojnih tradicionalnih antibiotika sa baktericidnim dejstvom, napadaju organele bakterije, posebno enzime respiratornog lanca, koji su vezani za mezosome ćelijske membrane. Na ovaj način dolazi do potpunog uništavanja patogenih aerobnih bakterija, jer dolazi do

blokiranja ćelijskog disanja (respiracije) i do smrti bakterije, a, u isto vrijeme, ne dolazi do lize ćelijskog zida odnosno ne dolazi do oštećenja ćelijskog zida bakterije. Ovim se sprječava oslobađanje endotoksina u organizam, koje bi dovelo do naglog pogoršanja opšteg stanja pacijenta. Jelena Zilic, Ecoli



Kako su brojne studije pokazale antimikrobnu aktivnost timola i karvakrola, postavilo se pitanje da li bi se mogla poboljšati njihova antimikrobna aktivnost hemijskim modifikacijama, odnosno sintezom njihovih derivata. Mathela i saradnici su ispitivali aktivnost 14 sintetisanih estera timola i karvakrola i upoređivali njihovu aktivnost mjerenjem minimalne inhibitorne koncentracije - MIC (najniže koncentracije koja daje potpunu inhibiciju rasta bakterija). Antimikrobna aktivnost je ispitivana in vitro na kultivisanim bakterijama – na četiri gram pozitivne bakterije (*Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*) i jedne gram negativne bakterije (*Escherichia coli*). Kao standard je upotrijebljen ampicilin. Nakon inkubacije bakterija sa ispitivanim jedinjenjima 24h na temperaturi 37°C mjerena je MIC i došlo se do sljedećih zaključaka:

- Dva derivata timola (2-izopropil-5-metilfenil acetat i 2-izopropil-5-metilfenil izobutirat) su imala veću antimikrobnu aktivnost od timola za bakterije *Streptococcus mutans*.

- Tri derivata timola (2-izopropil-5-metilfenil acetat, 2-izopropil-5-metilfenil izobutirat i 2-izopropil-5-metilfenil propionat) su imala veću antimikrobnu aktivnost od timola za bakterije *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*.
- Derivati karvakrola su imali mnogo manju aktivnost od samog karvakrola
- Ni jedan derivat nije imao bolju aktivnost na gram negativne bakterije (*Escherichia coli*) (Mathela et al, 2010)

Karvakrol je u ispitivanjima na animalnim modelima pokazao anksiolitičke efekte. Melo i saradnici su sproveli studiju na miševima kojima je peroralno davan karvakrol u dozama od 12,5, 25 i 50mg/kg a kao standard za upoređivanje efekata upotrijebljen je diazepam u dozi 1 i 2mg/kg uz flumazenil (2,5mg/kg). Studija je potvrdila anksiolitičko dejstvo karvakrola bez uticaja na san. (Melo et al, 2009)

Fenolna jedinjenja (karvakrol, timol, eugenol) djeluju na GABAA receptore

Origano je testiran i ocijenjen od strane US Department of Agriculture kao supstanca koja ima 3 do 20 puta veće antioksidativno dejstvo nego druge biljke koje su proučavane. (Baltik Junior)

Antioksidativno dejstvo karvakrola je potvrđeno u studiji Aristatila i saradnika (Aristatila et al, 2009). Studija je dizajnirana da ispita hepatoprotektivna i antioksidantna svojstva karvakrola na D-galaktozamin, koji je indukovao hepatotoksična oštećenja kod pacova. U studiji su praćeni biohemijski parametri - enzimi (aspartat aminotransferaza, alanin aminotransferaza, alkalna fosfataza, gama-glutamil transpeptidaza) kao i lipidperoksidativni markeri (tiobarbiturna kiselina reaktivne supstance, lipidni hidroperoksidi). Nakon izlaganja miševa D-galaktozaminom, nivo biohemijskih parametara je značajno povećan, a aktivnost enzimskih antioksidanasa (superoksid dizmutaze, katalaze, peroksidaze i glutaciona) kao i neenzimskih antioksidanasa (vitamini C I E, redukovani

glutation) se takođe smanjio u plazmi, eritrocitima, jetri i bubrezima. Poslije oralne primjene karvakrola za 21 dan, nivo svih biohemijskih parametara i antioksidanasa je bio normalan. Biohemijska zapažanja su potvrđena histološkim analizama tkiva jetre i bubrega pacova. Ovi rezultati ukazuju da karvakrol ima značajan hepatoprotektivni i antioksidativni efekat.

Hipoglikemičku aktivnost karvakrola u vodenom ekstraktu biljke *Origanum vulgare* na pacovima koji su imali hiperglikemiju ispitivali su Lemhadri i saradnici u studiji. (Lemhadri et al, 2004) Nakon oralnih primjena jedne doze, 15 dana, vodenog ekstrakta divljeg origana (20mg/kg), nivo glukoze u krvi je opao za 6 puta. Pri tome je jako bitno napomenuti da nije dolazilo do promjena koncentracije insulina u plazmi u toku i nakon primjene vodenog ekstrakta divljeg origana.

Efekat karvakrola na ćelije nemikrocelularnog karcinoma ispitivan je in vitro na humanim ćelijama A549 (Koparal, 2003). Ćelije su inkubirane sa različitim koncentracijama karvakrola 24h. Uočeno je da su veće koncentracije karvakrola dovele do smanjenja broja A549 ćelija, i izazvale morfološke promjene ćelija, koje su identifikovane svjetlosnim mikroskopom. Podaci ukazuju da je karvakrol moćan inhibitor rasta A549 ćelija.

Da karvakrol ima antitumorski efekat, pokazuje in vivo studija Ćlu i saradnika (Ćlu et al, 1998). Ova studija je sprovedena na Vistar albino pacovima, koji su podijeljeni u šest grupa. Jednoj grupi je apliciran karvakrol (99,3%) koji je rastvoren u sterilnom maslinovom ulju i primjenjivan je četiri puta za osam dana i 9,10-di metil-1,2-benzantracen (DMBA) rastvoren u sezamovom ulju, koji je primjenjen samo jednom. Drugoj grupi je apliciran samo DMBA, takođe samo jednom. Trećoj grupi je apliciran kolhicin tri dana u nedjelji i DMBA. Preostale tri grupe su kontrolne kojima su aplicirani čisto maslinovo ulje, sezamovo ulje i 0.9% NaCl. Kao rezultat makroskopskog i mikroskopskog pregleda pluća u drugoj grupi je uočen razvoj tumora izazvan sa DMBA. U trećoj grupi je identifikovan

tumor na površini pluća ali mnogo manji nego u drugoj. U kontrolnim grupama tumori nisu bili prisutni kao ni i u grupi koja je tretirana karvakrolom, što navodi na zaključak da karvakrol ima jaku antitumorsku aktivnost izazvanu DMBA na plućima.

Poznato je da je enzim ciklooksigenaza-2 (COX-2) uključen u biosintezu prostangladina koji igraju ključnu ulogu u inflamatornim procesima. Hotta i saradnici su u studiji dokazali antiinflamatorni efekat karvakrola. Receptor aktivacije proliferacije peroksizoma PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) direktno je uključen u kontrolu i izražavanje COX-2, i obrnuto. U ispitivanju je, nakon uzimanja karvakrola, ustanovljena supresija COX-2 u ćelijama humanih makrofaga i U937 ćelijama, iz razloga što karvakrol djeluje agonistički sa PPAR. (Hotta et al, 2010)

Kliničkim studijama je potvrđeno da karvakrol i terpeni poboljšavaju apsorpciju nekih lijekova kroz kožu. Vaddi i saradnici su ispitivali transdermalnu apsorpciju haloperidola sa karvakrolom, linalolom i terpineolom kroz ljudsku kožu. Ishod je mjereno diferencijalnom skenirajućom kalorimetrijom i infracrvenom spektroskopijom. Kao rezultat ovog ispitivanja je bila poboljšana apsorpcija i povećana aktivnost haloperidola u koži. Svi terpeni su „prekinuli” lipidne barijere. (Vaddi et al, 2002). Poboljšanu transdermalnu apsorpciju antivirusnog lijeka 3'-azido-3'-deoxythymidine (zidovudin) uz karvakrol, timol, linalol i anetol su ispitivali i in vitro i in vivo Karali i saradnici (Karali et al, 1994). In vitro ispitivanja su vršena na obrijanim miševima i apsorpcija zidovudina je bila poboljšana za 24-38 puta, tj. 5% poboljšanja, što ukazuje da je poboljšano prodiranje zbog mehanizma transporta tj. povećane difuzije lijeka u stratus korneum. In vivo rezultati su takođe dali poboljšane rezultate, ali slabije od in vitro. Ove studije ukazuju na potencijal karvakrola i ostalih terpena na poboljšanu transdermalnu apsorpciju nekih lijekova.

Topikalna primjena karvakrola

Karvakrol u obliku gela je ispitivan na pacovima za sprječavanje paradentoze. Histopatološkim nalazom je utvrđeno da je došlo do smanjenja mijeloperoksidazne aktivnosti u gingivi, sprječavanja širenja mikroorganizama, samim tim do očuvanja periodoncijuma i sprječavanja paradentoze. (Botelho et al, 2009)

4.5. Interakcije i neželjena dejstva karvakrola

Nema prijavljenih interakcija sa lijekovima ni OTC preparatima.

Osim mogućih alergijskih reakcija (osip, iritacija kože, povraćanje) česta upotreba karvakrola može dovesti do smanjenja apsorpcije gvožđa, pa se iz tog razloga ne preporučuje trudnicama.

Jedna studija je ispitala efekat karvakrola na imuni sistem svinja i pokazala da je karvakrol toksičan za ćelije imunog sistema - CD4 i CD8, koje su odgovorne za imuni odgovor. Karvakrol je doveo do indukcije apoptoze i smanjenja proliferacije limfocita. (Bimczok et al, 2008)

5.0. ZAKLJUČAK

Farmakokinetika je od ogromnog značaja za sprovođenje racionalne (efikasne, bezbijedne i ekonomski opravdane) terapije. Koji farmaceutski oblik lijeka je najefikasniji za određeno oboljenje? Koji način aplikacije je najpogodniji? Koja je odgovarajuća doza i koji su intervali doziranja? Koliko dugo treba primjenjivati određeni lijek? Gdje se vrši njegova apsorpcija i kojom brzinom? Kako će se raspodijeliti u plazmi – da li se veže za proteine ili je slobodan u plazmi? Kada će imati najveću koncentraciju u plazmi i na mjesto djelovanja? Da li se metaboliše i kako se izlučuje iz organizma? Kako se ponaša kad se primjenjuje u kombinaciji sa drugim lijekovima? Koji su to biološki faktori i specifična stanja koji utiču na primjenu i doziranje lijeka? ... I na mnogo drugih pitanja, odgovore daje farmakokinetika, jer za ukupan efekat liječenja nije samo bitan uticaj lijeka na organizam već i uticaj organizma na lijek.

Timus, a posebno majčina dušica, kod nas se vjekovima upotrebljavaju, posebno u narodnoj medicini. Poznato je da je nosilac ljekovitosti hemijsko jedinjenje koje se nalazi u biljkama. Tako je otkrićem hemijskog sastava ovih biljaka, naučna medicina išla u smjeru daljeg ispitivanja ovih jedinjenja. Kliničkim studijama je potvrđeno mnogostruko dejstvo karvakrola i timola, što je opisano u radu.

Međutim, veoma malo je podataka o njihovoj farmakokinetici, kao i kod mnogo drugih aktivnih supstanci iz biljaka. Da li je razlog nemogućnost kvalitetne izolacije, (ne)stabilnost aktivnih principa, slaba aktivnost ako se izdvoje iz svog „matičnog supstrata” biljke u kojoj je izraženo njihovo sinergističko djelovanje, ili pak naučna medicina ima više interesa (u finansijskom smislu) u sintezi novih lijekova, čiju farmakokinetiku moraju detaljno opisati u sažetku karakteristika lijeka (SPC), a pri tome veliki dio tog sažetka čine neželjena dejstva tog lijeka!?

Karvakrol i timol se vrlo brzo apsorbiraju sa mjesta aplikacije, brzo se metabolišu jer ne podliježu prvoj fazi biotransformacije, već se direktno vrši njihova konjugacija sa sumpornom i glukuronskom kiselinom. Izlučuju se urinom za 24h, najvećim dijelom u obliku konjugata a manjim dijelom u nepromijenjenom obliku. Pri tome skoro da nemaju neželjenih efekata, ili mogu reći da imaju neželjene efekte u istoj mjeri koliko i najzdravija voćka – moguće alergijske reakcije (za što je „kriv“ imuni sistem samog organizma), oprez u trudnoći i, naravno, upotreba prevelikih doza.

Da li će se naučna medicina okrenuti prirodi u kojoj postoji lijek za svako oboljenje, tu, svuda oko nas, veliko je pitanje?

6.0. REFERENCE

Aristatile, B., Al-Numair, K.S., Veeramani, C., Pugalendi, K.V.(2009): Effect of carvacrol on hepatic marker enzymes and antioxidant status in D-galactosamine-induced hepatotoxicity in rats; Journal Article Fundamental & clinical pharmacology: Volume: 23; ISSN: 1472-8206; ISO Abbreviation: Fundam Clin Pharmacol; Publication

Austgulen, L.T., Solheim, E., Scheline, R.R. (1987): Metabolism in rats of p-cymene derivatives: carvacrol and thymol. Pharmacol Toxicol.;61(2):98-102.

Bimczok, D., Rau, H., Sewekow, E., Janczyk, P., Souffrant, W.B., Rothkötter, H.J.(2008): Influence of carvacrol on proliferation and survival of porcine lymphocytes and intestinal epithelial cells in vitro. Toxicol In Vitro.;22(3):652-8.

Botelho, M. A., Martins, J.G., Ruela, R.S., Santos, J.A., Soares, J.B., França, M.C., Montenegro, D., Ruela, W.S, Barros, L.P., Queiroz, D.B., Araujo, R.S., Sempio, F.C. (2009): Protective effect of locally applied carvacrol gel on ligature-induced periodontitis in rats: a tapping mode AFM study. Phytother Res.; 23(10):1439-48.

Carvacrol oil .Dostupno na URL:

http://www.phpure.com/nutrition_products/carvacrol_oil.htm

<http://en.wikipedia.org/wiki/Carvacrol>

Pristup: 05.07.2010.

chemindustry. Dostupno na URL :

<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=10364>

Pristup: 28.06.2010.

Emea; Committee on herbal medicinal products 2008

Franz, Ch., Bauer, R., Carle, G.R., Tedesco, H.D., Tubaro, M.A.,Trieste, Zitterl-Eglseer, K. (2005): Study on the assessment of plants. Dostupno naURL:

http://www.agronavigator.cz/UserFiles/File/Agronavigator/Kvasnickova_2/EFSA_feedap_report_plantsherbs.pdf

Pristup: 01.07.2010.

Ālu¹, Z., Aydin^{2,3*}, S. Öztürk^{2,3}, Y., Üsnü, K.H. (1998): Inhibitory effects of carvacrol on dmba induced pulmonary tumorigenesis in rats melih Article published in Acta Pharmaceutica Turcica 40(2) 93-98

Hotta, M., Nakata, R., Katsukawa, M., Hori, K., Takahashi, S. and Inoue, H. (2010): Carvacrol, a component of thyme oil, activates PPAR α and γ and suppresses COX-2 expression; Journal of Lipid Research, Vol. 51, 132-139

Kararli, T.T., Kirchoff, C.F., Penzotti, S.C.(1995): Enhancement of transdermal transport of azidothymidine (AZT) with novel terpene and terpene-like enhancers: in vivo-in vitro correlations; Journal of controlled release 34:43-51

Koparal, A.T. and Zeytinoglu, M. (2003): Effects of Carvacrol on a Human Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cell Line, A549; Cytotechnology Volume 43, Numbers 1-3

Kovačević, N. (1999): Aromatične droge u terapiji respiratornog trakta; Osnovi farmakognozije; Srpska školska knjiga Beograd 3.izdanje 269-273

Laurence, R.D., Bennet, P.N., Opća farmakologija, Klinička farmakologija, Jugoslavenska medicinska naklada 1980, 99-104

Lemhadri, A., Zeggwagh, N. A., Maghrani, M., Jouad, H. and Eddouks, M. (2004): Anti-hyperglycaemic activity of the aqueous extract of *Origanum vulgare* growing wild in Tafilalet region; Journal of Ethnopharmacology Volume 92, Issues 2-3, Pages 251-256

Lukić, P. (2001): Farmakognozija, Farmaceutski fakultet Beograd

Mathela, C. S., Singh, K. K., Gupta, V. K. (2010): Syntesis and in vitro antibakterijal activity of thymol and carvacrol derivates; Acta Poloniae Pharmaceutica n Drug Research, Vol. 67 No. 4 pp. 375n380, 2010

Melo, F. H., C., Venâncio, E. T., de Sousa, D.P., de França Fonteles, M., M., de Vasconcelos, S.M.M, Viana, G. S. B., de Sousa, F., C., F. (2009): Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission; Fundamental & Clinical Pharmacology Volume 24 Issue 4, Pages 437 – 443

Michiels, J., Missotten, J., Dierick N., Fremaut, D., Maene, P., De Smet, S. (2008): In vitro degradation and in vivo passage kinetics of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde along the gastrointestinal tract of piglets; *Journal of the Science of Food and Agriculture* Volume 88 Issue 13, Pages 2371 - 2381

Nafisi, Sh., Hajiakhoondi, A., Yektadoost, A. (2004): Thymol and carvacrol binding to DNA: model for DRUG-DNA interaction *Biopolymers*; See Also: Volume 74 Issue 5, Pages 345 - 351

Nostro, A., Sudano Roccaro, A., Bisignano, G., Marino, A., Cannatelli, M. A., Pizzimenti, F.C., Cioni, P.L., Procopio, F. and Blanco, A.R. (2007): Effects of oregano, carvacrol and thymol on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms; *J. Med Microbiol* 56, 519-523;

Origano ulje. Dostupno na URL:

<http://www.baltikjunior.com/?naucna-istrazivanja-koja-dokazuju-antibakterijsko-i-antivirusno-delovanje-origano-ulja,21>

Pristup: 28.06.2010.

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M. and Moore, P.K. (2005): *Farmakokinetika* 114-119. *Farmakologija*. Data stratus Beograd (5)

Tucakov, J. (1990): *Majkina dušica; Lečenje biljem; Rad Beograd*: 452-455

Ultee, A., Bennik, M. H. J. and Moezelaar, R. (2002): . All Rights Reserved. The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol Is Essential for Action against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*; *Applied and Environmental Microbiology*, 1561-1568, Vol. 68, No. 4

Ugrešić N., Stanimirović, V., Đukić, Lj., Terzić, B., *Farmakokinetika, Farmakoterapiski vodič, Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije* 2008., 32-35

Vaddia, H.K., Hoa, P.C., Chanb, Y. W., Chana, S. Y. (2002): Terpenes in ethanol: haloperidol permeation and partition through human skin and stratum corneum changes; *Journal of Controlled Release* 81 (2002) 121–133

Veldhuizen, E.j.A., Tjeerdsma-van Bokhoven, J.I.M., Zweijtzer, C., Burt, S.A. and Haagsman, H.P. (2006): Structural Requirements for the Antimicrobial Activity of Carvacrol *J. Agric. Food Chem.*, 54 (5), pp 1874–1879

Wang, Q., Gong, J., Huang, X., Yu, H., Xue, F. (2009): .In vitro evaluation of the activity of microencapsulated carvacrol against Escherichia coli with K88 pil; J Appl Microbiol. 1;107(6):1781-8.

Zilic, J. Escoli. Dostupno na URL:

http://www.escoli.it/srb/infekcije_urinarnog.html

Pristup: 28.06.2010.

Yadav, Ganapati, D., Kamble, Shashikant. B. (2009): Synthesis of carvacrol by Friedel-Crafts alkylation of o-cresol with isopropanol using superacidic catalyst UDCaT-5; Journal of Chemical Technology & Biotechnology, Volume 84, Number 10, pp. 1499-1508(10)