

Značenje kliničke primjene timola



Indira Mujezinović*, A. Smajlović, Almedina Zuko, Behija Dukić i V. Čupić

Uvod

Terpeni (terpenoidi, izoprenoidi) su prirodni sekundarni metaboliti biljaka, a glavni su sastojak eteričnih ulja koji biljnom materijalu daju karakterističan miris (Kovačević, 1999.). Timol (2-izopropil-5-metilfenol) spada u grupu monoterpenских fenola koji su prisutni u eteričnim uljima različitih biljaka iz porodice *Labiatae*: *Thymus vulgaris* (vrtni timijan, prava majčina dušica), *Thymus serpyllum* (poljski timijan, majčina dušica), *Origanum vulgare* (vranilova trava, mravinac), *Satureja thymbra* (čubar, vrisak) i dr. (Marković, 2005.). Ove aromatične biljke omiljeni su lijekovi u narodnoj medicini, a koriste se i u prehrambenoj industriji kao začini i konzervansi, zatim u komercijalnim sredstvima protiv komaraca kao repelenti, u aromaterapiji i tradicionalnoj medicini za liječenje glavobolje, kašlja i proljeva (Marcheze i sur., 2016.).

Jedna od glavnih djelatnih tvari ovih biljaka je timol, koji ima višestruko djelovanje, potvrđeno mnogim kliničkim studijama (Floris i sur., 2004., Sanchez i sur., 2004., Burt i sur., 2005. Guarda i sur., 2011.). U humanoj medicini timol se u obliku različitih preparata koristi za topikalno liječenje oboljenja kože, inhalaciju kod respiratornih poremećaja,

kao i za dentalnu njegu. U veterinarskoj medicini timol se koristi se u terapiji infekcija gornjeg respiratornog trakta, bronhitisa, pleuritisa i pneumonija. Dnevne doze za konje, goveda, ovce, svinje i pse iznose 10 mg/kg tjelesne mase, a daju se tijekom 5 dana (EMEA, 1996.). Osim toga, timol se upotrebljava i kao antiparazitik za liječenje varooze pčelinjih zajednica (Rademacher i Radtke, 2004.).

Timol se može primjenjivati peroralno, topikalno i putem inhalacije, a primjenjuje se u obliku farmaceutskih ekstraktivnih pripravaka (tečni i suhi ekstrakti, tinkture, čajevi) i eteričnih ulja, koji ulaze u sastav različitih farmaceutskih oblika (kapsula, masti, sirupa i dr.).

Farmakologija timola

Brojni su podaci o *in vitro* ispitivanju timola. Tako je istraživana i *in vitro* učinkovitost timola protiv *Varroa destructor* (Adamczyk i sur., 2005.) i *Varroa jacobsoni* (Mathela i sur., 2010.), zatim njegovo antiseptičko djelovanje (Mourad i sur., 2005.), kao i učinci na referentni soj bakterije *E. coli* 0157:H7 (Burt i sur., 2005., Guarda i sur., 2011.).

Dr. sc. Indira MUJEZINOVIĆ*, dr. med. vet., izvanredna profesorica (dopisni autor, e-mail: indira.mujezinovic@vfs.unsa.ba), dr. sc. Ahmed SMAJLOVIĆ, dr. med. vet., docent, dr. sc. Almedina ZUKO, dr. med. vet., redovita profesorica, dr. sc. Behija DUKIĆ, dr. med. vet., izvanredna profesorica, Veterinarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, Sarajevo, Bosna i Hercegovina, dr. sc. Vitomir ČUPIĆ, dr. med. vet., redoviti profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija

Tijekom dugogodišnje uporabe, spoznalo se da timol ima, uz antiseptičko i spazmolitičko i antihelmintičko djelovanje. Antimikrobni spektar timola je širok, jer djeluje na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije, gljivice i kvasnice (EMEA, 1996., Anonymous, 2003., The merck index 2006.).

U *in vitro* uvjetima isto je tako istraživana fungicidna aktivnost (Shapiro i Guggenheim, 1995.), kao i mogući mehanizam proutuupalnog učinka timola (Azuma i sur., 1986.).

Timol, kao prirodna alternativa antibioticima, za razliku od brojnih antibiotika s baktericidnim djelovanjem, napada organele bakterije, posebno enzime respiratornih organa, koji su vezani za mezosome stanične membrane. Na ovaj način dolazi do potpunog uništavanja patogenih aerobnih bakterija, jer dolazi do blokiranja staničnog disanja (respiracije) i do smrti bakterije, a istovremeno ne dolazi do lize, odnosno do oštećenja stanične stijenke bakterije. Ovim se sprječava oslobađanje bakterijskog endotoksina u organizam, koje bi dovelo do naglog pogoršanja općeg stanja pacijenta (Sanchez i sur., 2004.).

Veliki broj istraživanja proveden je na pčelinjim zajednicama, a u nekoliko odvojenih *in vitro* studija istraživana je

i kombinacija timola s nekim drugim tvarima (Stoner i sur., 1973., Adamczyk i sur., 2005., Mathela i sur., 2010.). U nekim od navedenih i drugim *in vivo* studijama na laboratorijskim životinjama i pčelinjim zajednicama (*Apis mellifera* L.) najčešće je istraživana toksičnost i prateći učinci timola te njegovih sekundarni (fungicidno, baktericidno, anthelmintičko djelovanje) farmakološki učinci (EMEA, 1996.).

Tijekom ovih ispitivanja provjeravan je utjecaj timola na pčele, kao i parazita *V. destructor* (Floris i sur., 2004., Rademacher i Radtke, 2004.). Eksperimenti su provedeni u košnicama, kao i u laboratoriju u inkubatoru s pčelama koje su bile invadirane ektoparazitom *V. destructor*, pri temperaturi od 32 °C i vlažnosti od 50-60%. Koncentracije timola i drugih aktivnih tvari su mjerene tijekom 24, 48 i 72 sata nakon unosa pripravaka u inkubator. Nakon 72 sata izbrojane su mrtve grinje i pčele. Pčele koje su preživjele anestetizirane su sa CO₂, a zatim tuširane alkoholom kako bi se s njih skinule i prebrojale grinje. Mortalitet pčela i grinja iskazan je postotno u odnosu na pčele koje su tijekom tretmana bile u inkubatoru. U ovom su istraživanju utvrđene koncentracije aktivnih tvari u zraku koje su bile dovoljne za usmrćivanje

Tabela 1. Učinci eteričnih ulja i nekih njihovih sastojaka na *V. destructor* i *A. mellifera* L.

Tvari	Koncentracije tvari koje imaju dobro akaricidno djelovanje (>80%) i slabu toksičnost (<20%) na pčele (µg/litri zraka)
Timol	5-15
Mentol	20-60
Kamfor	50-150
Eukaliptol	240-300
Ulje salvie	300-500
γ-terpinen	350-800
Ulje hiosopa	400-900
p-cimol	400-1.000
Ulje tima	500-700

gotovo 100% grinja, a da pri tome nisu prouzročile znatnije ugibanje pčela. Te koncentracije su za timol iznosile 5-15 µg/L, kamfor 50-150 µg/L i mentol 20-60 µg/L, dok je za eukaliptusovo ulje koncentracija iznosila 240 µg/L i pri tom prouzročila ugibanje 25% tretiranih pčela (Takada i sur., 1979.).

Tijekom kliničkih istraživanja na pčelinjim zajednicama različitih ljekovitih pripravaka koji sadržavaju timol, u propisanim terapijskim koncentracijama, nije primijećeno da imaju štetne učinke. Ipak, ustvrđeno je da se zbog intenzivnog mirisa koji timol ima, nakon dužeg zadržavanja veterinarsko medicinskih pripravaka na bazi timola u košnici, miris može prenijeti na med (Bishop, 2005.).

Zanimljivo istraživanje u laboratorijskim uvjetima proveli su Imdorf i sur. (2006.). Oni su ispitivali akaricidno djelovanje na *V. destructor* te toksično djelovanje na *A. mellifera* L., određenih eteričnih ulja, kao i njihovih sastojaka. Autori su ustanovili da dobar akaricidni učinak (>80%) protiv *V. destructor* i slab toksični učinak na pčele (<20%) imaju neke tvari u različitim koncentracijama što se vidi iz Tabele 1.

Iz prikazanih rezultata jasno se vidi da neke od navedenih tvari, a naročito timol, imaju dobar akaricidni učinak u vrlo malim koncentracijama, što ukazuje da timol spada u najučinkovitije varoicide.

Na pčelinjim zajednicama provedena su još neka komparativna istraživanja različitih ljekovitih pripravaka koji sadrže timol. Tijekom ovih istraživanja ustvrđeno je da, bez obzira o kojem se pripravku radi, koncentracija timola u zraku košnice nikad ne prelazi rizičnu granicu od 15 µg/L zraka. Nadalje, tijekom ovih istraživanja ustvrđeno je da timol u sastavu različitih ljekovitih pripravaka podjednako znatno reducira broj grinja. Kroz navedena istraživanja ustanovljeno je da se timol nakon primjene u vidu komercijalnih pripravaka oslobodi u koncentracijama

koje ne djeluju štetno na pčele. Time je jasno dokazano da lijekovi za pčele s timolom imaju potrebnu terapijsku širinu (Anonymous, 2003.).

Mehanizam djelovanja timola

Iako se timol odavno koristi kao spazmolitik, anthelmintik i antiseptik (The Merck Index, 2006., Martindale, 2007.) njegov točan mehanizam djelovanja nije poznat. Na osnovi nekih preliminarnih *in vitro* istraživanja, moglo bi se pretpostaviti da učinak timola na grinje i kukce djeluje preko GABA(A)-R receptora (Sanzhez i sur., 2004). Postoje tvrdnje da monoterpeni, u koje se ubraja i timol, djeluju neurotoksično na oktopaminergičke neurone u kukaca i grinja. Prema tome, timol, uz antiseptički ima i akaricidni, a samo u povećanim koncentracijama i insekticidni učinak čiji mehanizam djelovanja nije poznat. Najvjerojatnije je da je ugibanje grinja posljedica gušenja (Isman, 2000.).

Farmakokinetika timola

Prva farmakokinetička istraživanja timola provedena su prije više od 100 godina, gdje je naročito istraživao njegov metabolizam. U studijama provedenim na kunićima, psima i ljudima ustvrđeno je da se timol, nakon peroralne aplikacije brzo resorbira iz gastrointestinalnog trakta, metabolizira oksidacijom te brzo (u prva 24 sata od aplikacije) izlučuje putem urina i to manjim dijelom u nepromijenjenom, a većim dijelom i u obliku glukuronida i/ili konjugiranih sulfata (Anonymous, 2000.).

Takada i sur. (1979.) su istraživali metabolizam timola u kunića i ljudi. Timol je kunićima apliciran peroralno, a nakon 24 sata u urinu je utvrđen timol-glukuronid i nemetabolizirani timol. Međutim, u ljudi je u urinu, za isto vrijeme, utvrđen timolhidrokinon, za koji se pretpostavlja da je ester sumporne

kiseline. Nakon peroralne aplikacije doze od 1,08 mg timola, u krvnoj plazmi ljudi može se ustvrditi sulfatni konjugat i to 20 minuta nakon primjene. Maksimalna koncentracija ($93,1 \text{ ng/mL}^{-1}$) u plazmi postiže se nakon 2 sata. Izlučuje se urinom najkasnije za 24 sata, a poluvrijeme eliminacije iznosi 10,2 sata (Kohlert i sur., 2004.).

Rezidue

Timol je od Veterinarskog vijeća za veterinarske medicinske pripravke (EMEA-CVMP) prihvaćen kao prirodna i sigurna aktivna tvar za koju nije potrebno utvrđivati najveće dopuštene količine rezidua (MRL) (engl. Maximum Residue Limit) te je uvršten Aneksom II u listu tvari bez karencije (Council Regulation No 2377/90), odnosno na Listu A Swissmedic agencije (EMEA, 1996.).

U istraživanjima provedenim na nekim pčelinjim proizvodima (med i vosak) istraživane su rezidue timola, nakon primjene različitih ljekovitih pripravaka, odnosno nakon pojedinačne primjene u obliku uljne (maslinovo ulje) ili alkoholne otopine timola. Ustvrdeno je da timol, kao prirodna tvar predstavlja dobru alternativu sintetičkim akaricidima, naročito zbog toga što ne predstavljaju rizik po zdravlje (Adamczyk i sur., 2005.). Pri procjeni rizika Stručnog vijeća za arome Vijeća Europe 1992., određena je gornja granica za timol u hrani od 50 mg/kg, a u piću od 10 mg/kg (EMEA, 1996.).

Osim toga, ustvrdeno je da su, nakon primjene nekih pripravaka za uporabu u pčela, rezidue timola u medu iznosile od 0,12 do 0,4 mg/kg, a u vosku od 21,6 do 147,7 mg/kg. Veći sadržaj rezidua timola u vosku u odnosu na med se objašnjava njegovom liposolubilnošću. Ipak, rezidue timola u medu ili vosku brzo se oslobađaju i metaboliziraju, a u prirodi se brzo razgrađuju (Floris i sur., 2004.).

Toksičnost timola

Nije ustvrdeno da timol u 15% koncentraciji, nakon primjene, pri temperaturi između 15-30 °C, a naročito optimalnoj 20-25 °C, dovodi do neželjenih farmakodinamičkih učinaka u pčela. Jedino je pri dnevnoj temperaturi iznad 30 °C primijećena povećana uznemirenost i smrtnost odraslih pčela (Anonymous, 2000.).

Dermatološki testovi iritacije provedeni su na kunićima, zamorčićima i ljudima, a konjunktivalni test na kunićima. U ovim ispitivanjima spoznalo se da timol ima lokalno iritirajuće djelovanje. U košnici nema lokalnu toksičnost na pčele, jer u oslobođenim koncentracijama pri optimalnoj temperaturi ne vrši lokalnu iritaciju na razini dišnog sustava pčela, tako da rijetko (<20%) dolazi do njihovog gušenja (Anonymous, 2000.).

U literaturi se najčešće navodi da timol nema teratogene, kancerogene ili mutagene učinke (EMEA, 1996.). Ipak, potencijalni kancerogeni učinak timola provjeravan je *in vitro* na embrionalnim stanicama sirijskog hrčka nakon čega je zapažena blaga transformacija (0,34%) stanica i mala citotoksičnost u dozama od 10-30 $\mu\text{g/mL}$. Kancerogeni potencijal timola je *in vivo* istraživan na miševima obaju spolova nakon njegove intraperitonealne (i.p.) aplikacije u dozama od 50 i 250 mg/kg tj. mase, tijekom 8 tjedana. Nakon 16. ili 24. tjedna od prve primjene timola, životinje su žrtvovane te je ustvrdeno da nije bilo povećanja incidence plućnih tumora (Rademacher i Radtke, 2004.).

Mutageni potencijal timola provjeravan je u više *in vitro* i *in vivo* studija. *In vitro* mutageni potencijal timola vršen je *Salmonella*/mikrosomalnim testom te je praćena moguća mutacija gena u bakterijskim stanicama (korišteni sojevi TA 98, TA 100, TA 1535 i 1537 *Salmonella typhimurium*). Ustvrdeno je da

timol nije imao genotoksično i mutageno djelovanje (Anonimus, 2000.).

In vivo testovi utvrđivanja potencijalne mutagenosti timola provedeni su na mikronukleus testu u miševa i SLRL testa na vinskoj mušici (*Drosophila melanogaster*) i u oba testa timol nije imao mutageni učinak (Anonymous, 2000.).

Zaključci

Većina biljaka iz porodice *Labiatae* sadržavaju timol kao osnovnu djelatnu tvar. Primjena timola je jednostavna, tj. aplicira se peroralno, inhalacijom ili topikalno. Nakon dugogodišnje uporabe u humanoj i veterinarskoj medicini spoznalo se je da timol ima, prije svega dobro antibakterijsko djelovanje protiv velikog broja Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija. U veterinarskoj praksi dokazana je i učinkovitost timola u liječenju varooze pčelinjih zajednica.

Ustvrdeno je da se timol brzo resorbira s mjesta aplikacije, brzo metabolizira i brzo izlučuje iz organizma. To je prirodna i sigurna aktivna tvar za koju nije potrebno utvrđivati MRL te je uvršten Aneksom II u listu tvari bez karencije. Isto tako, nije utvrđeno da ima bilo kakve teratogene, kancerogene ili mutagene učinke.

Sažetak

Timol (2-izopropil-5-metilfenol) je prirodni spoj iz grupe monoterpenских fenola. Ovi fenoli su prisutni u eteričnim uljima mnogih biljaka iz porodice *Labiatae*, koji se već stoljećima koriste u narodnoj medicini. Tijekom dugogodišnje uporabe, ustanovljeno je da timol ima, uz antiseptičko, spazmolitičko i antihelmintičko djelovanje. Antimikrobni spektar timola je širok, jer djeluje na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije, gljivice i kvasnice. Kao prirodna alternativa antibioticima, za razliku od brojnih antibiotika s baktericidnim djelovanjem, napada organele bakterije, posebice enzime respiratornih organa, koji su vezani za

mezosome stanične membrane. Na ovaj način dolazi do potpunog uništavanja patogenih aerobnih bakterija, jer dolazi do blokiranja staničnog disanja (respiracije) i smrti bakterije. Danas se timol s uspjehom koristi kako u humanoj, tako i u veterinarskoj medicini. U veterinarskoj se praksi koristi u različitim vrsta životinja u terapiji respiratornih bolesti, a naročito u pčelarstvu, jer ima dobar akaricidni učinak u vrlo malim koncentracijama. Točan mehanizam akaricidnog djelovanja timola još uvijek nije dovoljno poznat. Smatra se da je neurotoksično djelovanje timola na oktopaminergičke neurone grinja i kukaca posredovano GABA(A)-R receptorima. Najvjerojatnije da je ugibanje grinja posljedica njihovog gušenja. Timol se brzo resorbira iz gastrointestinalnog sustava, metabolizira oksidacijom i glukuronidacijom te brzo (u prva 24 sata od aplikacije) izlučuje putem urina i to manjim dijelom u nepromijenjenom i većim dijelom u obliku glukuronida i/ili konjugiranih sulfata. Timol je prirodna i sigurna aktivna tvar za koju nije potrebno utvrđivati MRL te je uvršten Aneksom II u listu tvari bez karencije. U istraživanjima provedenim na nekim pčelinjim proizvodima (med i vosak) provjeravane su rezidue timola, te je utvrđeno da timol, kao prirodna tvar predstavlja dobru alternativu sintetičkim akaricidima, naročito zbog toga što ne predstavljaju rizik po zdravlje. Pri procjeni rizika Stručnog vijeća za arome Vijeća Europe 1992., određena je gornja granica za timol u hrani od 50 mg/kg, a u piću od 10 mg/kg. Tijekom kliničkih ispitivanja različitih ljekovitih pripravaka koji sadržavaju timol na pčelinjim zajednicama nisu zabilježeni štetni učinci nakon primjene u terapijskim koncentracijama. Timol ne djeluje teratogeno, kancerogeno niti mutageno.

Ključne riječi: *timol, monoterpenски fenoli, V. destructor, pčelinje zajednice*

Literatura

1. Anon. (2000): Toxicological evaluation of the "Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie" Nr. 259. Edition 06/2000.
2. Anon. (2003): Registry of Toxic effects of chemical substances (RTECS) No XP2275000.
3. ADAMCZYK, S., R. LAZARO, C. PEREZ-ARGUILLUE, P. CONCHELLO and A. HERRERA

- (2005): Evaluation of residues of essential oil components in honey after different anti-varroa treatments. *J. Agric. Food Chem.* 53, 10085-10090.
4. AZUMA, Y., N. OZASA, Y. UEDA and N. TAKAGI (1986): Pharmacological studies on the anti-inflammatory action of phenolic compounds. *J. Dent. Res.* 65, 53-56.
 5. BISHOP, Y. (2005): *The Veterinary Formulary*. 6th edition. The Pharmaceutical Press. London.
 6. BURT, S. A., R. VLIELANDER, H. P. HAAGSMAN and E. J. VELDTHUIZEN (2005): Increase in activity of essential oil components carvacrol and thymol against *Escherichia coli* O157:H7 by addition of food stabilizers. *J. Food Prot.* 68, 919-926.
 7. FLORIS, I., A. SATTI, P. CABRAS, V. L. GARAU and A. ANGIONI (2004): Comparison between two thymol formulations in the control of Varroa destructor: effectiveness, persistence and residues. *J. Econ. Entomol.* 97, 187-191.
 8. GUARDA, A., J. F. RUBILAR, J. MILTZ and M. J. Galotto (2011): The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *Int. J. Food Microbiol.* 146, 144-150.
 9. IMDORF, A., S. BOGDANOV, V. KILCHENMAN and T. BERGER (2006): Toxic effects of essential oils and some of their components on Varroa destructor and *Apis mellifera* L under laboratory conditions. *ALP science* No 495.
 10. ISMAN, M. B. (2000): Plant essential oils for pest and diseases management. *Crop Protection* 19, 603-608.
 11. KOHLERT, C., G. SCHINDLER, R. W. MARZ, G. ABEL, B. BRINKHAUS, H. DERENDORF, E. U. GAÄFE and M. VEIT (2002): Systemic Availability and Pharmacokinetics of Thymol in Humans. *J. Clin. Pharmacol.* 42, 731-737.
 12. KOVAČEVIĆ, N. (1999): *Aromatične droge u terapiji respiratornog trakta. Osnovi farmakognoziije*. 3. izdanje, Srpska školska knjiga Beograd.
 13. MARCHESI, A., I. E. ORHAN, M. DAGLIA, R. BARBIERI, A. DILORENZO, O. GORTZI, S. F. NABAVI, M. IZADI and S. M. NABAVI (2016): Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chem.* 210, 402-414.
 14. MARKOVIĆ, S. (2005): *Fitoaromaterapija. Monografije esencijalnih ulja i ljekovitih biljaka temelji fitoaromaterapije*. Centar Cedrus.
 15. MATHELA, C. S., K. K. SINGH and V. K. GUPTA (2010): Syntesis and *in vitro* antibacterial activity of thymol and carvacrol derivatives; *Acta Polon. Pharmac. - Drug Res.* 67, 375-380.
 16. MOURAD, A. K., O. A. ZAGHLOUL, M. B. EL KADY, F. M. NEMET and M. E. MORSY (2005): A novel approach for the management of the chalkbrood disease infesting honeybee *Apis mellifera* L. (*Hymenoptera: Apidae*) colonies in Egypt. *Common. Agric. Appl. Biol. Sci.* 70, 601-611.
 17. SANCHEZ, M. E., V. TURINA ADEL, D. A. GARCIA, M. V. NOLAN and M. A. PERILLO (2004): Surface activity of thymol: implications for an eventual pharmacological activity. *Colloids Surf. B. Biointerfaces* 34, 77-86.
 18. SHAPIRO, S. and B. GUGGENHEIM (1995): The action of thymol on oral bacteria. *Oral Microbiol. Immunol.* 10, 241-246.
 19. STONER, G. D., M. B. SHIMKIN, A. J. KNIAZEFF, E. K. WEISBURGER and G. B. GORI (1973): Test for carcinogenicity of food additives and chemotherapeutic agents by the pulmonary tumor response in strain A mice. *Cancer Res.* 33, 3069-3085.
 20. RADEMACHER, E. and J. RADTKE (2004): Investigation on the use of Thymovar against varroosis. *Apidologie* 32, 488-489.
 21. TAKADA, M., I. AGATA, M. SAKAMOTO, N. YAGI and N. HAYASHI (1979): On the metabolic detoxication of thymol in rabbit and man. *J. Toxicol. Sci.* 4, 341-350.
 22. THE COMPLETE DRUG REFERENCE. MARTINDALE. 35th edition (2007): Pharmaceutical Press. London.
 23. THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCT (1996): Committee for veterinary medicinal Products (EMEA-CVMP). Thymol. Summary report. EMEA/MRL/075/96-FINAL.
 24. THE MERCK INDEX. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals (2006): 14th Edition. Merck and Co., INC., Whitehouse Station.

Importance of clinical applications of thymol

Indira MUJEZINOVIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Ahmed SMAJLOVIĆ, DVM, PhD, Assistant Professor, Almedina ZUKO, DVM, PhD, Full Professor, Behija DUKIĆ, DVM, PhD, Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina; Vitimir ČUPIĆ, DVM, PhD, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine University of Beograd, Serbia

Thymol (2-isopropyl-5-methylphenol) is a natural compound from a group of monoterpenic phenols. These phenols are present in the essential oils of many plants of the *Labiatae* family, which are used in the folk medicine for centuries. During

this long-term period, it is established that thymol has, together with antiseptic and spasmolytic, also antihelmintic action. Thymol antimicrobial spectrum is wide because it acts on Gram-positive and Gram-negative bacteria, fungi and yeasts. As a

natural alternative to antibiotics, unlike many traditional antibiotics with bactericidal action, thymol attacks bacterial organelles, especially respiratory chain enzymes, which are linked to mesosomes of the cell membranes, which leads to complete destruction of pathogenic aerobic bacteria results due to a blockage of the cellular respiration and death of the bacteria. During numerous *in vitro* and *in vivo* studies conducted with thymol, it has been proved that thymol has antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, antiseptic, spasmolytic and anthelmintic effects. It has a wide spectrum of effects against both, Gram-positive and Gram-negative bacteria, yeasts and molds. Nowadays, thymol is used successfully both in human and in veterinary medicine. In veterinary practice, it is used with different species of animals in the treatment of respiratory diseases. Also, it is widely used in beekeeping as a good acaricide at very low concentrations. The exact mechanism of acaricidal action of thymol is still not sufficiently known. General idea is that timol acaricidal action is mediated via GABA (A) receptor-R, leading to a neurotoxic effect on the octopaminergic nerves of ticks and insects. Most likely, the death of the ticks is the result of their choking. Thymol is rapidly absorbed from the gastrointestinal system, metabolized by oxidation and glucuronidation, and rapidly (in the first 24 hours of application)

excreted via urine, and to a small extent in the unchanged and in large part in the form of glucuronides and / or conjugated sulphates. Additionally, it was found that thymol is quickly reabsorbed from the site of administration, promptly metabolized and rapidly excreted from the organism. Thymol is a natural and safe active substance for which MRL is not established, and it is listed in Annex II of the List of substances without withdrawal period. During the investigation of thymol residues in some bee products (honey and wax) it was found that treatments with this natural substance can be considered to be good alternatives for synthetic acaricides, especially because they do not represent a sanitary risk. Thymol has been evaluated 1992 by the Committee of Expert on Flavorings Substances of the Council of Europe. Thymol is listed among the substances that are permitted as flavouring agents. An upper limit for inclusion of thymol in food has been established at 50 mg/kg and in beverages at 10 mg/kg. During clinical trials of the various medicinal preparations containing thymol on bee-keeping communities, at the established therapeutic concentrations, no adverse effects have been observed. Thymol did not show any theratogenic, mutagenic or carcinogenic effects.

Key words: *thymol, monoterpene phenols, Varroa destructor, honeybee colonies*