

ŁOŚ, Tomasz, BIELAWSKA, Olga, ROGALA, Maciej, LORENC, Karol, JABŁOŃSKA, Klaudia, KUC, Michał, GIŻEWSKA, Kamila and GULBICKA, Marta. Multipotential properties of eugenol in pharmacology - comprehensive review of current state of knowledge. *Journal of Education, Health and Sport*. 2023;45(1):403-414. eISSN 2391-8306.
<https://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2023.45.01.029>
<https://apcz.umk.pl/JEHS/article/view/45418>
<https://zenodo.org/record/8280642>

The journal has had 40 points in Ministry of Education and Science of Poland parametric evaluation. Annex to the announcement of the Minister of Education and Science of 17.07.2023 No. 32318. Has a Journal's Unique Identifier: 201159. Scientific disciplines assigned: Physical Culture Sciences (Field of Medical sciences and health sciences); Health Sciences (Field of Medical Sciences and Health Sciences). Punkty Ministerialne z 2019 - aktualny rok 40 punktów. Załącznik do komunikatu Ministra Edukacji i Nauki z dnia 17.07.2023 Lp. 32318. Posiada Unikatowy Identyfikator Czasopisma: 201159. Przypisane dyscypliny naukowe: Nauki o kulturze fizycznej (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu); Nauki o zdrowiu (Dziedzina nauk medycznych i nauk o zdrowiu).
© The Authors 2023;
This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author (s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non commercial license Share alike. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 27.07.2023. Revised: 21.08.2023. Accepted: 24.08.2023. Published: 29.08.2023.

MULTIPOTENTIAL PROPERTIES OF EUGENOL IN PHARMACOLOGY - COMPREHENSIVE REVIEW OF CURRENT STATE OF KNOWLEDGE.

WIELOPOTENCJALNE WŁAŚCIWOŚCI EUGENOLU W FARMAKOLOGII - KOMPLEKSOWY PRZEGLĄD AKTUALNEGO STANU WIEDZY.

Tomasz Łoś⁴ ORCID: 0009-0009-4995-5557, tomasz.los.97@gmail.com

Olga Bielawska¹ ORCID: 0009-0004-9461-8772, bielawska.olgaa@gmail.com

Maciej Rogala¹ ORCID: 0000-0001-6153-1698, macieg.rogala@gmail.com

Karol Lorenc⁴ ORCID: 0000-0002-6414-5984, lorenckarol2@gmail.com

Klaudia Jabłońska³ ORCID: 0000-0002-8049-5802, klaudia.jablonska@kul.pl

Michał Kuc¹ ORCID: 0009-0003-5025-0868, michal.kuc12@o2.pl

Kamila Giżewska² ORCID: 0000-0003-1682-180X, gizewska.kamila@gmail.com

Marta Gulbicka¹ ORCID: 0009-0006-6504-0806, mgulbicka98@gmail.com

¹1st Military Clinical Hospital with Polyclinic SPZOZ in Lublin

²Medical University of Lublin

³Department of Psychotherapy and Health Psychology, The John Paul II Catholic University of Lublin

⁴Stefan Kardynał Wyszyński Regional Specialized Hospital Independent Public Health Care Center in Lublin

Abstract

Introduction and purpose: Eugenol is a well-known phenolic chemical substance that can be found in clove oil. Due to its multi-potential properties, it arouse more and more interest from scientists. The possibility of using it as a therapeutic substance in many diseases is being sought. The aim of this review is to summarize the latest information on eugenol, explanation its mechanisms of action and to demonstrate the expanding therapeutic potential.

Materials and methods: The literature available on PubMed, Google Scholar was reviewed using the words: “eugenol”; “antibacterial”; “antifungal” ;“antiinflammatory”

Description of the state of knowledge: Eugenol demonstrates many pharmacological properties, of which the most essential is the ability to inhibit the growth and eradication of many human pathogens. Its wide spectrum of action covers Gram-negative bacteria as well as some Gram-positive bacteria. Eugenol also represents fungicidal properties, and the mechanism of its action is seen in its ability to deform and disrupt the cell membrane of pathogens. After eugenol penetrates through the cell membrane excessive amounts ROS are formed and next fatty acids that build the cell membrane are modified, which ultimately leads to the lysis of the pathogen cell. Research on eugenol also proves its anti-inflammatory and analgesic properties by blocking cyclooxygenase and lipoxygenase. The effectiveness of eugenol is comparable to non-steroidal anti-inflammatory drugs

Summary: Based on the promising results of recent research on the properties of eugenol, it can be expected that in the future it will be used in the production of new therapeutic agents. However, it seems reasonable to conduct more large clinical trials evaluating the effectiveness of eugenol before it is introduced as a therapeutic agent

Key words: eugenol, cell membrane, nanoemulsion

Wprowadzenie:

Eugenol, to substancja fenolowa zawarta w olejku goździkowym, jest szczególnie wszechstronnym związkiem fitochemicznym prezentuje duży zakres właściwości terapeutycznych, wśród nich systematycznie badano między innymi działanie przeciwzapalne,

przeciwutleniające i przeciwnowotworowe. [1] Jego potencjał antyseptyczny także znalazł zastosowanie w płynach do utrzymania higieny jamy ustnej jako środek dezynfekujący, jak i składnik elementów wypełniających w stomatologii. [2] Został wyizolowany po raz pierwszy w roku 1929 jako lotny związek z Goździkowca korzennego, następnie w 1940 rozpoczęto jego komercyjną produkcję. [3] Naturalnie występujący eugenol możemy wyizolować między innymi z roślin następujących rodzin: liści bazylii świętej, imbiru, korze i liściach cynamonu, kurkumy. [4] Eugenol wzbudza coraz większe zainteresowanie badaczy za sprawą jego wielokierunkowego działania. Upatruje się możliwości wykorzystania go jako składnika produktów o potencjale terapeutycznym przeciwko szeregowi chorób [3]

Obecny stan wiedzy:

1. Farmakologiczne właściwości eugenolu:

1.1 Przeciwgrzybicze

Eugenol ma wpływ na fizjologię mikroorganizmów poprzez różne mechanizmy działania. Najczęściej zaburza funkcjonowanie błony komórkowej lub deaktywuje czynniki wirulencji, w tym toksyny. Bennis, a następnie Brag prowadzili badania nad mechanizmem działania EUG. Wykazali za pomocą obserwacji z wykorzystaniem mikroskopu elektronowego, że eugenol wprowadzał istotne zmiany w otocze *Saccharomyces cerevisiae* i *Candida albicans*. Patogeny te były poddawane ekspozycji na 1xMIC eugenolu (500ug/ml) co skutkowało zmniejszeniem liczby normalnych drożdży i zwiększeniem liczby uszkodzonych komórek. [5] Dodatkowo w swoim badaniu Olea i in. badali wpływ pochodnych eugenolu na wzrost grzybn *Botrytis Cinerea*. Analiza zależności struktura-aktywność sugerowała, że związki te działają na grzyby dwoma mechanizmami, tj. akumulacją na błonie grzyba oraz reakcjami chemicznymi z nienasyconymi łańcuchami lub redukcją enzymatyczną. Doszli do wniosku, że pochodne eugenolu wpływają hamująco na wzrost tego gatunku grzyba za pomocą dwóch mechanizmów działania, akumulacji w błonie komórkowej oraz reakcjami chemicznymi z nienasyconymi łańcuchami kwasów, które ostatecznie prowadziło do przerwania błon komórkowych grzyba oraz produkcji reaktywnych form tlenu. [6] Saracino i in. przeprowadzili badania, które miały na celu wykazanie in vitro przeciwgrzybiczego działania 5 składników olejków eterycznych: aldehydu cynamonowego, α -pinenu, limonenu,

eukaliptolu i eugenolu. Za pomocą metody dyfuzji krążkowej badano ich wpływ na wyizolowane kultury szczepów klinicznych *Candida albicans* pochodzących z pochwy. Po ustaleniu kryterium uznawania hamowania za skuteczne tylko wtedy, gdy IZ były równe lub większe od amfoterycyny B, najbardziej obiecujące wyniki prezentował Eugenol, który wytwarzał najszerze halo hamujące o średniej średnicy odpowiednio 35,2 mm, większy niż na szalkach porównawczych z amfoterycyną-B. [7] W jednym z ciekawszych badań w 2019 roku Jafri in. badali wpływ eugenolu na choroby jamy ustnej przebiegające z wytworzeniem biofilmu przez szczepy *Streptococcus mutans* oraz *Candida albicans* opornymi na ketokonazol, itraconazol i afmoterycynę B. Eugenol był stosowany w celu wywołania supresji wzrostu biofilmu pojedynczych szczepów *Candida a.* jak i szczepów zmieszanych ze *Streptococcus m.* Ich interakcje mogą prowadzić do ciężkich i opornych infekcji w jamie ustnej. Wyniki przeprowadzonego badania wykazały że, przy podprogowym stężeniu hamującym eugenolu (100ug/ml) biofilmy obu patogenów uległy znaczącej dezorganizacji. Doszło do zatrzymania ich wzrostu i zmiany kształtu komórek ich budujących w ocenie mikroskopowej. [8]

1.2 Przeciwbakteryjne

Podobny wpływ na błonę komórkową jak w przypadku działania przeciwgrzybiczego eugenolu udowodnili Devi i in, badając jego mechanizm działania na *Salmonellę tyfi*. Eugenol modyfikował działanie błony komórkowej poprzez zwiększenie jej przepuszczalności doprowadzając do lizy komórki poprzez wyciek jonów i utraty jej zawartości całkowicie zaburzając jej procesy metaboliczne. Mechanizm działania związany był z modyfikacją kwasów tłuszczowych zawartych w błonie komórkowej bakterii. [9] Dodatkowo działanie eugenolu związane jest z grupami –OH znajdującymi się w związkach budujących błonę komórkową, które znajdują się w pozycjach meta i orto. Lipofilowy charakter EUG i możliwość przenikania błony komórkowej umożliwiały interakcję z wyżej wymienionymi grupami funkcyjnymi doprowadzając do zakłócania działalności pomy protonowej a tym samym do śmierci komórki patogenów takich jak *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella dysenteriae*, *L.monocytogenes*, *S. aureus*. [10] celem badania prowadzonego przez Xiangyang i in. była ocena działania przeciwbakteryjnego wobec *Sh. flexneri* mierząc minimalne stężenie hamujące, minimalne stężenie bakteriobójcze oraz pomiar aktywności dysmutazy ponadtlenkowej. *Sh. flexneri* inkubowano w ekstrakcie eugenolu o stężeniu 0,5 mg/ml - tyle wyniosło minimalne stężenie hamujące. Przy stężeniach

0,8, 1,0 i 1,6 mg/ml nie zaobserwowano wzrostu żadnej koloni Shigelli co wskazywało na całkowitą inaktywację bakterii. Minimalne stężenie bakteriobójcze wyniosło 0,8 mg/ml. Dodatkowo eugenol znacząco zredukował aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, co skutkowało wzrostem wewnątrzkomórkowych wolnych rodników tlenowych, co dodatkowo doprowadziło do uszkodzenia oksydacyjnego błony komórkowej. [11] W kolejnym badaniu prowadzonym przez Elbestawy i in. zastosowano ekstrakt olejku eugenolu przeciwko izolatom *H. pylori* oraz szczepowi standardowemu *H.pylori*. Otrzymano średnicę zahamowania wzrostu bakterii (od 10 ± 06 do 22 ± 04 mm), wyniki dla badania porównawczego z użyciem amoksycyliny prezentowały podobny zakres (od 0,0 do $16 \pm 0,05$ mm), z czego wyniki dla eugenolu wskazywały na jego większą efektywność. Bardzo ważnym elementem tego badania była powtarzalność próby z wykorzystaniem bakterii po 10 pasażach hodowlanych, w których to *H. pylori* nie zaprezentowała oporności mimo jej hodowli w stężeniach hamujących subpodstawowych. [12] W 2023 roku w jednym z najnowszych badań Liu i in. prowadzili badania nad szczepem *Klebsiella pneumoniae* odpornej na karbapenemy. W tym badaniu wykorzystali kliniczny szczep CRKP, który umieścili na płycie agarowych płytkach TSB. Pojedyncze kolonie CRKP hodowano w 8 ml pożywki TSB przez noc w 37°C z wytrząsaniem przez noc. Eugenol o końcowych stężeniach 0,25, 0,5 i 1,0 mg/ml dodawano do zawiesin bakteryjnych w temperaturze 37°C odpowiednio na 24 godziny. Liczba bakterii w koloniach stopniowo malała wraz ze wzrostem stężenia EG z 0,25 do 1,0 mg/ml. Ponad 85% CRKP zostało zabitych przez 0,5 mg/ml EG, co wskazuje na doskonałą aktywność przeciwbakteryjną EG. Ponadto, gdy stężenie EG wynosiło 1,0 mg/ml, prawie 100% CRKP zostało wyeliminowane.[13] W badaniu prowadzonym przez Zhao i in. oceniono działanie przeciwbakteryjne eugenolu na podstawie zmian morfologii komórek, oraz genów związanych z fimbriami jak i czynników wirulencji *S. Typhimurium*, by następnie ocenić patogenność *S. Typhimurium* poddanego wstępnemu działaniu eugenolu na kurczętą. Analiza wrażliwości wykazała, że eugenol prezentował znaczną aktywność przeciwdrobnoustrojową. Posługując się analizą skaningowego mikroskopu elektronowego wykazano, że eugenol miał wpływ na morfologię bakterii uszkadzając strukturę fimbrii *S. Typhimurium*. Testy PCR potwierdziły, że eugenol znacznie obniżał ekspresję czynników wirulencji układu wydzielniczego typu III oraz genów przylegania fimbrii typu I. Eksperymenty na zwierzętach udowodniły zmniejszoną chorobotwórczość bakterii, na co wskazywała zwiększona przeżywalność oraz przyrost masy zwierząt. Odnotowano obniżenie parametrów wskaźnikowych narządów jak i samo zmniejszenie obciążenia bakteryjnego w narządach.[14] W kolejnym badaniu prowadzonym przez Fu i in. zademonstrowano

mechanizm antybakteryjny nanoemulsji stabilizowanego eugenolu przeciwko *E. coli* i *S. aureus*. Zaprezentowane wyniki testów inhibicji bakteryjnej wykazały, wysoce hamujące właściwości dla wzrostu dla obu bakterii, przy czym bakterie Gram-ujemne były skuteczniej hamowane niż bakterie Gram-dodatnie. W cytoplazmie bakterii dochodziło do powstawania zwiększonej ilości wolnych rodników tlenowych oraz dialdehydu malonowego, co skutkowało zwiększoną przepuszczalnością błony komórkowej, a następnie jej rozerwaniem. Dodatkowo przeprowadzono badania cytotoksyczności, za pomocą cytometrii przepływowej wykazano brak istotnego wpływu na proliferację i apoptozę komórek nabłonka płaskiego płuc (BEAS-2B), co wskazuje na niską toksyczność i dobrą biogodność nanoemulsji. [15]

1.3 Przeciwwzapalne

Nowe badanie prowadzone w 2022 roku przez Hobani i in. miało na celu wykazanie działania cytoprotekcyjnego i przeciwwzapalnego eugenolu, przy zastosowaniu go w niskich dawkach. Eugenol wprowadzano do żołądków szczurów u których wcześniej za pomocą etanolu doprowadzono do powstania wrzodów żołądka. Ustalono że, Eugenol znacząco pomniejszył liczbę owrzodzeń i miał protekcyjne działanie na błonę śluzową nie doprowadzając do nowych owrzodzeń nawet po ponownym wprowadzeniu etanolu do żołądków szczurów. Odnotowano również wzrost zaniżonych poziomów glutationu z dodatkowym zmniejszeniem stężeń czynnika martwicy nowotworów i interleukiny-6 mających właściwości prozapalne. Zaobserwowano również zmniejszenie poziomu syntazy tlenu azotu w osoczu oraz wzrost PGE2 [16]. W kolejnym badaniu prowadzonym przez Andrade i in. badano eugenol w odniesieniu do związków przeciwwzapalnych jakimi są aspiryna i diklofenak, skupiając się na tym czy eugenol może być stosowany jako związek farmakologiczny wykazujący podobieństwa do wyżej wymienionych leków. Za pomocą specjalnych analiz bioinformatycznych wykazano sprzężenia molekularne eugenolu z aminokwasami w miejscach aktywnych COX-2 i 5-LOX enzymów prowadząc do obniżenia ich aktywności. Możliwość molekularnego dopasowania eugenolu do regulacji aktywności COX-2/5-LOX, niesie potencjał do wykorzystania go w składzie lub syntezie nowych leków w celu zwalczania chorób, w których istotną rolę odgrywają procesy prozapalne, takich jak: reumatoidalne zapalenie stawów, wrzodziejące zapalenie jelita grubego czy nowotwory. [17] Zdolność eugenolu do modulowania stanu zapalnego znalazła zastosowanie w badaniach nad preparatami farmaceutycznymi i została przetestowana na szczurzych modelach zwierzęcych, u których wywoływano obrzęk łap za pomocą karageniny. W badaniu stosowano nanoemulsję do aplikacji zewnętrznej zawierającą 1% 2% i 4% eugenolu. Badania na zwierzętach

wykazały, że nanoemulsja wykazywała znacznie lepszą aktywność przeciwzapalną po 1,5 godzinie w porównaniu z dostępnymi na rynku żelami zawierającymi piroksykam. Najlepszym efektem charakteryzowała się 2 % nanoemulsja doprowadzając do zmniejszenia obrzęku i szybszą aktywnością niż emulsje z piroksykamem. [18] Zbadano również działanie przeciwzapalne eugenolu już na poziomie samej migracji leukocytów. Obserwowano jaki wpływ na rozwinięcie się stanu zapalnego będzie miało użycie eugenolu po stymulacji różnymi bodźcami prozapalnymi takimi jak: N-formylo-metionylo-leucylo-feniloalanina (fMLP), leukotrien B₄ (LTB₄) i karagenina. Estevão-Silva i in. wykazali, że eugenol znacząco ograniczył przemieszczanie się leukocytów in vitro i in vivo w odpowiedzi na wyżej wymienione czynniki poprzez modulację toczenia i przylegania do tkanki okołonaczyniowej. Ważnym aspektem, który autorzy udowodnili w swoim badaniu było to, że eugenol nie indukował zmian w żywotności komórek ludzkich, co sugeruje brak działania toksycznego. Dodatkowo Eugenol prezentuje działanie przeciwzapalne podczas odpowiedzi na ostre uszkodzenie płuc wywołane lipopolisacharydem (LPS-). Po zastosowaniu eugenolu wyhamowana została odpowiedź zapalna i rekrutację białych krwinek do tkanki płucnej poprzez obniżenie ekspresji cytokin prozapalnych IL-6 i TNF- α oraz sygnalizację NF. [19]

1.4 Przeciwbólowe

Niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) są podstawowymi lekami przeciwbólowymi drabiny analgetycznej. Działają poprzez hamowanie cyklooksygenazy, uniemożliwiając wytworzenie prostaglandyn odpowiedzialnych między innymi za ból nocyceptywny. Mechanizm działania eugenolu związany jest z hamowaniem COX-2 i zablokowaniem prądu Ca²⁺ odpowiedzialnego za powstawanie impulsów w neuronach doprowadzających wywodzących się z receptorów opioidowych, cholinergicznym i α 2-adrenergicznym. Działanie antynocyceptywne eugenolu prawdopodobnie jest także związane z modulacją receptora kwasu gamma-aminomasłowego (GABA), poprzez zahamowanie prądów wychodzących z receptorów GABA-ergicznych w neuronach zwoju nerwu trójdzielnego [20] W badaniu przeprowadzonym w 2019 roku przez Ferland i in. było określenie właściwości przeciwbólowych eugenolu w odniesieniu do znanych leków przeciwbólowych i przeciwzapalnych: diklofenaku, naproksenu oraz tramadolu za pomocą testu formalinowego. Badanie przeprowadzono na szczurzych modelach zwierzęcych, które podzielono na sześć grup po 5 osobników każda. Zastosowane substancje: solanka (0,9%); formalina (5%); diklofenak (250 ug/kg); naproksen (400 ug/kg); tramadol (500 μ g/kg) i

eugenol (1400 µg/kg) podawano w okolicę śródpodeszwową łapy gryzoni. Eugenol zmniejszył o 44,4% zachowanie nocyceptywne w fazie pierwszej ostrego bólu I i 48% w fazie drugiej bólu tonicznego. Wykazano, że eugenol był 1,14 razy skuteczniejszy niż diklofenak, ale 1,62 i 1,75 razy mniej skuteczny niż odpowiednio naproksen i tramadol w fazie I i 1,45 razy mniej skuteczny niż diklofenak i naproksen oraz 1,66 razy mniej skuteczny niż tramadol w fazie 2. Dane te sugerują, że eugenol wykazuje umiarkowaną aktywność w ostrej fazie bólu i większą aktywność w bólu typu zapalnego, a oba efekty są porównywalne z efektami wywoływanymi przez diklofenak i są mniejsze niż efekty wywoływane przez naproksen i tramadol w teście formalinowym. [21] W nowym badaniu prowadzonym przez Maghbool i in. oceniano skuteczność eugenolu w postaci żelowej nanoemulsji jako środka przeciwbólowego u pacjentów poddawanych hemodializie, u których nakłuwano przetokę tętniczo-żylną. Badanie było prowadzone metodą podwójnie ślepej próby. Pacjenci zostali przydzieleni losowo do grup z eugenolem w żelu 4% (n=34) i placebo w żelu (n=34). Za pomocą analogowej skali bólu oceniano dolegliwości bólowe tych pacjentów podczas kaniulacji przetoki po uprzednim zastosowaniu emulsji. W wynikach badań dało się zaobserwować znaczącą różnicę między średnią oceną nasilenia bólu pacjentów. W grupie pacjentów, którzy otrzymali nanoemulsję z eugenolem średnie dolegliwości bólowe wynosiły $3,29 \pm 0,67$. W porównaniu do grupy, średni stopień nasilenia bólu wyniósł $5,03 \pm 0,57$. Biorąc pod uwagę wyniki tego badania klinicznego, widzimy że eugenol prezentuje duży potencjał jako środek przeciwbólowy. Znacząco zmniejszył nasilenie bólu związanego z kaniulacją przetoki tętniczo żylną u pacjentów poddawanych hemodializie w przybliżeniu o 1,7 w skali VAS między grupami. [22]

WNIOSKI:

Obecny przegląd podsumowuje potencjał terapeutyczny jaki niesie za sobą eugenol. Szerokie spektrum jego właściwości z grupy przeciwbakteryjnych już teraz może znaleźć zastosowanie jako środek obejmujący swoim działaniem przede wszystkim bakterie z grupy Gram-ujemnych jak i Gram-dodatnich. Potencjalnie może być również wykorzystywany jako substancja dodatkowa działająca w połączeniu z antybiotykami, zmniejszając ich minimalne stężenie hamujące tym samym mając wpływ na zmniejszenie antybiotykooporności. Należy zwrócić uwagę na opisane właściwości przeciwwgrzybicze, związane głównie ze zdolnością do niszczenia błony komórkowej oraz produkcji reaktywnych form tlenu, osiągające skuteczność porównywalną do terapeutyków z grupy azoli. Dodatkowo należy podkreślić jego bardzo szerokie właściwości przeciwzapalne oraz przeciwbólowe, mające wiele punktów uchwytu,

które mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób o podłożu zapalnym z przebiegającymi dolegliwościami nocycetywnymi. Zasadne wydaje się jednak przeprowadzenie większej ilości dużych badań klinicznych, poddających ocenie skuteczność eugenolu zanim będzie wprowadzony jako środek terapeutyczny.

Disclosures

Author's contribution

Conceptualization: Łoś T. , Lorenc K. Methodology: Jabłońska K. Software: Jabłońska K., Rogala M. Formal analysis: Kuc M., Łoś T. Investigation: Łoś T., Kuc M. Resources: Lorenc K., Bielawska O. Data curation: Kuc M., Jabłońska K. Writing – rough preparation: Lorenc K., Giżewska K. Writing review and editing: Łoś T., Giżewska K. Visualization: Bielawska O., Łoś T.

Supervision: Giżewska K., Rogala M. Project administration: Lorenc K., Bielawska O.

All authors have read and agreed with the published version of the manuscript.

Funding Statement: No funding received.

Institutional Review Board Statement: No applicable.

Informed Consent Statement: No applicable.

Data Availability Statement: The data presented in the study are administered by the author for correspondence.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Piśmiennictwo:

[1] Aburel OM, Pavel IZ, Dănilă MD, Lelcu T, Roi A, Lighezan R, Muntean DM, Rusu LC. Pleiotropic Effects of Eugenol: The Good, the Bad, and the Unknown. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Mar 2;2021:3165159. doi: 10.1155/2021/3165159. PMID: 33747344; PMCID:

PMC7943301.

[2] Jadhav BK, Khandelwal KR, Ketkar AR, Pisal SS. Formulation and evaluation of mucoadhesive tablets containing eugenol for the treatment of periodontal diseases. *Drug Dev Ind Pharm*. 2004 Feb;30(2):195-203. doi: 10.1081/ddc-120028715. PMID: 15089054.

[3] Ulanowska M, Olas B. Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol-A Review. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 1;22(7):3671. doi: 10.3390/ijms22073671. PMID: 33916044; PMCID: PMC8036490.

[4] Anees Ahmed Khalil, Ubaid ur Rahman , Moazzam Rafiq Khan , Amna Sahar , Tariq Mehmood and Muneeb Khan. Essential oil eugenol: sources, extraction techniques and nutraceutical perspectives. DOI: 10.1039/c7ra04803c *RSC Adv.*, June 2017, 7, 32669

[5] Marchese A, Barbieri R, Coppo E, Orhan IE, Daglia M, Nabavi SF, Izadi M, Abdollahi M, Nabavi SM, Ajami M. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Crit Rev Microbiol*. 2017 Nov;43(6):668-689. doi: 10.1080/1040841X.2017.1295225. Epub 2017 Mar 27. PMID: 28346030.

[6] Olea, A. F., Bravo, A., Martínez, R., Thomas, M., Sedan, C., Espinoza, et.al & Carrasco, H. (2019). Antifungal activity of eugenol derivatives against *Botrytis cinerea*. *Molecules*, 24(7), 1239. <https://doi.org/10.3390/molecules24071239>

[7] Saracino IM, Foschi C, Pavoni M, Spigarelli R, Valerii MC, Spisni E. Antifungal Activity of Natural Compounds vs. *Candida* spp.: A Mixture of Cinnamaldehyde and Eugenol Shows Promising In Vitro Results. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Jan 8;11(1):73. doi: 10.3390/antibiotics11010073. PMID: 35052950; PMCID: PMC8773119.

[8] Didehdar M, Chegini Z, Shariati A. Eugenol: A novel therapeutic agent for the inhibition of *Candida* species infection. *Front Pharmacol*. 2022 Aug 9;13:872127. doi: 10.3389/fphar.2022.872127. PMID: 36016558; PMCID: PMC9395595.

[9] Marchese A, Barbieri R, Coppo E, Orhan IE, Daglia M, Nabavi SF, Izadi M, Abdollahi M, Nabavi SM, Ajami M. Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Crit Rev Microbiol*. 2017 Nov;43(6):668-689. doi: 10.1080/1040841X.2017.1295225. Epub 2017 Mar 27. PMID: 28346030.

- [10] Haro-González JN, Castillo-Herrera GA, Martínez-Velázquez M, Espinosa-Andrews H. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*. 2021 Oct 22;26(21):6387. doi: 10.3390/molecules26216387. PMID: 34770801; PMCID: PMC8588428.
- [11] Bai X, Li X, Liu X, Xing Z, Su R, Wang Y, Xia X, Shi C. Antibacterial Effect of Eugenol on *Shigella flexneri* and Its Mechanism. *Foods*. 2022 Aug 25;11(17):2565. doi: 10.3390/foods11172565. PMID: 36076751; PMCID: PMC9455010.
- [12] Elbestawy MKM, El-Sherbiny GM, Moghannem SA. Antibacterial, Antibiofilm and Anti-Inflammatory Activities of Eugenol Clove Essential Oil against Resistant *Helicobacter pylori*. *Molecules*. 2023 Mar 7;28(6):2448. doi: 10.3390/molecules28062448. PMID: 36985419; PMCID: PMC10058968.
- [13] Liu W, Chen G, Dou K, Yi B, Wang D, Zhou Q, Sun Y. Eugenol eliminates carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* via reactive oxygen species mechanism. *Front Microbiol*. 2023 Feb 16;14:1090787. doi: 10.3389/fmicb.2023.1090787. PMID: 36876091; PMCID: PMC9978153.
- [14] Zhao X, Wei S, Tian Q, Peng W, Tao Y, Bo R, Liu M, Li J. Eugenol exposure in vitro inhibits the expressions of T3SS and TIF virulence genes in *Salmonella Typhimurium* and reduces its pathogenicity to chickens. *Microb Pathog*. 2022 Jan;162:105314. doi: 10.1016/j.micpath.2021.105314. Epub 2021 Nov 25. PMID: 34838999.
- [15] Fu X, Gao Y, Yan W, Zhang Z, Sarker S, Yin Y, Liu Q, Feng J, Chen J. Preparation of eugenol nanoemulsions for antibacterial activities. *RSC Adv*. 2022 Jan 24;12(6):3180-3190. doi: 10.1039/d1ra08184e. PMID: 35425353; PMCID: PMC8979276
- [16] Hobani YH, Mohan S, Shaheen E, Abdelhaleem A, Faruque Ahmad M, Bhatia S, Abou-Elhamd AS. Gastroprotective effect of low dose Eugenol in experimental rats against ethanol induced toxicity: Involvement of antiinflammatory and antioxidant mechanism. *J Ethnopharmacol*. 2022 May 10;289:115055. doi: 10.1016/j.jep.2022.115055. Epub 2022 Jan 29. PMID: 35101571.
- [17] Das Chagas Pereira de Andrade, Francisco, and Anderson Nogueira Mendes. "Computational analysis of eugenol inhibitory activity in lipoxygenase and cyclooxygenase pathways." *Scientific reports* 10.1 (2020): 16204. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73203-z>

- [18] Esmaeili F, Rajabnejhad S, Partoazar AR, Mehr SE, Faridi-Majidi R, Sahebgharani M, Syedmoradi L, Rajabnejhad MR, Amani A. Anti-inflammatory effects of eugenol nanoemulsion as a topical delivery system. *Pharm Dev Technol*. 2016 Nov;21(7):887-893. doi: 10.3109/10837450.2015.1078353. Epub 2015 Sep 12. PMID: 26365132.
- [19] Barboza JN, da Silva Maia Bezerra Filho C, Silva RO, Medeiros JVR, de Sousa DP. An Overview on the Anti-inflammatory Potential and Antioxidant Profile of Eugenol. *Oxid Med Cell Longev*. 2018 Oct 22;2018:3957262. doi: 10.1155/2018/3957262. PMID: 30425782; PMCID: PMC6217746.
- [20] Haro-González JN, Castillo-Herrera GA, Martínez-Velázquez M, Espinosa-Andrews H. Clove Essential Oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, Chemical Composition, Food Applications, and Essential Bioactivity for Human Health. *Molecules*. 2021 Oct 22;26(21):6387. doi: 10.3390/molecules26216387. PMID: 34770801; PMCID: PMC8588428.
- [21] Ferland CE, Beaudry F, Vachon P. Antinociceptive effects of eugenol evaluated in a monoiodoacetate-induced osteoarthritis rat model. *Phytother Res*. 2012 Sep;26(9):1278-85. doi: 10.1002/ptr.3725. Epub 2012 Jan 16. PMID: 23015356.
- [22] Maghbool M, Khosravi T, Vojdani S, Chaijan MR, Esmaeili F, Amani A, Rezayat F, Nasimi Doost Azgomi R, Mehraban SS, Hashempur MH. The effects of eugenol nanoemulsion on pain caused by arteriovenous fistula cannulation in hemodialysis patients: A randomized double-blinded controlled cross-over trial. *Complement Ther Med*. 2020 Aug;52:102440. doi: 10.1016/j.ctim.2020.102440. Epub 2020 May 16. PMID: 32951708.