



식중독 세균에 대한 Oleanolic Acid의 항균활성

최경희¹ · 김세정 · 윤요한*

숙명여자대학교 식품영양학과, ¹원광대학교 치의예과

Antimicrobial Activity of Oleanolic Acid for Foodborne Bacteria

Kyoung-Hee Choi¹, Sejeong Kim, and Yohan Yoon*

Department of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

¹Department of Oral Microbiology, College of Dentistry, Wonkwang University, Iksan, Jeonbuk 570-749, Korea

(Received June 17, 2014/Revised August 10, 2014/Accepted January 2, 2015)

ABSTRACT - Oleanolic acid and its derivatives are pentacyclic triterpene acids, which are produced in many plants and herbs. These are considered safe and thus, oleanolic acid is now used for cosmetic and pharmaceutical industry. Oleanolic acid affects peptidoglycan in cell wall of bacteria. Hence, the antimicrobial activity of oleanolic acid is not very obvious to Gram-negative bacteria such as *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*, and *Shigella sonnei* because the peptidoglycan is covered with outer membrane. However, oleanolic acid derivatives showed improved antimicrobial activity to Gram-negative bacteria. For Gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, oleanolic acid was very effective on reducing the cell counts of the pathogens. In addition, the cytotoxicity of oleanolic acid for human cell lines was minimal. Therefore, oleanolic acid should be considered as an antimicrobial food additive and a therapeutic agent to control foodborne pathogens.

Key words : oleanolic acid, antimicrobial, foodborne bacteria, antibiotic

항생제 오남용에 의해 발생한 항생제 내성 세균으로 인한 질병 발생이 급격히 증가하고 있고 이는 전세계가 함께 해결해야할 중요한 문제 중 하나가 되었다. 하지만 많은 전문가들의 지속적인 노력에도 불구하고 항생제 내성 세균에 의한 감염은 많은 국가들에서 여전히 문제가 되고 있고, 특히, 개발 도상국에서 질병과 죽음을 발생시키는 주요한 원인이 되고 있다¹⁾. 따라서 항생제를 지속적으로 사용하거나 새로운 항생제를 개발하기 보다는 항생제만큼 세균에 효과가 있는 새로운 항균물질 개발의 필요성이 제시되고 있다. 특히 현재 변화된 소비자 수용성과 적용에 대한 시급성을 고려하여 식용이 가능한 식물을 이용한 항균물질 개발의 필요성이 제안되고 있다²⁾.

식물로부터 추출한 물질은 많은 세균에 대해 억제 효과를 가지고 있고, 이러한 물질은 전통 의료에서 항균물질로 종종 사용되기도 했다. 이러한 식물들의 예로는, *Rosmarinus officinalis*³⁾, *Lythrum salicaria*⁴⁾, *Syzygium guineense*⁵⁾, *Irvinga gabonensis*⁶⁾, *Newbouldia laevis*⁷⁾가 있다. 식물은 phenol,

essential oil, alkaloid, terpene과 같은 항균성 물질 등 여러가지 방향족 물질을 합성한다. Terpene은 isoprene의 기본구조를 가지며, 다른 성분이 추가 될 경우 그것을 terpenoid라고 한다⁸⁾. Triterpenoid는 phytochemical 그룹으로 일반적인 식물이나 과일에도 풍부하기 때문에 그 약리적인 특성에 대해서 많은 연구가 진행되어 왔고 oleanolic acid, ursolic acid, betulinic acid 등이 잘 알려져 있다. 특히 oleanolic acid는 과일과 약초에 존재하여 유해한 영향없이 전세계적으로 많은 나라에서 안전하게 소비되어 왔고⁹⁾, 비교적 독성이 낮아 화장품이나 약품에 사용되어 왔다¹⁰⁾.

따라서 본 논문에서 oleanolic acid의 항균활성에 대해 검토하고 식품안전분야 적용가능성에 대해 고찰하고자 한다.

Oleanolic acid

Oleanolic acid는 pentacyclic triterpene으로 유리산이나 triterpenoid saponin의 아글리콘 형태로 자연계에 흔히 존재하면서³⁾, 항산화^{11,12)}, 염증반응 억제¹³⁾, 간 보호¹⁴⁾, 위 보호¹⁵⁾, 암세포에 대한 독성¹⁶⁾, 항 궤양¹⁷⁾, 항고지혈증¹⁸⁾ 등에 대한 생리활성을 가지고 있다¹⁹⁻²¹⁾. 따라서 식중독 세균을 제어하기 위해 oleanolic acid를 식품에 적용하면 다양

*Correspondence to: Yohan Yoon, Dept. of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea
Tel: 82-2-2077-7585
E-mail: yoon@sookmyung.ac.kr

한 생리활성 효능이 있을 수 있다. 이러한 oleanolic acid는 다양한 식품과 약용 식물을 포함하여 약 1,620개 이상의 식물 중에서 분리 되는데^{22,23)}, 특히 정향 잎(*Syzygium aromaticum*; 1.65 g/100 g 건조중량)²⁴⁾, 올리브 잎(*Olea europaea*; 3.1 g/100 g 건조중량)²⁵⁻²⁷⁾, 로즈마리 잎(*Rosmarinus officinalis*; 1.23/100 g 건조중량)²⁸⁻³⁰⁾ 등에서 추출 된다.

항균 활성

Oleanolic acid의 항균활성에 대한 초기의 연구결과는 주로 식중독 세균보다는 일반 병원성 세균에 대한 연구가 주를 이루고 있다. 특히 *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, *Mycobacterium tuberculosis* 등과 같은 병원성 세균의 성장을 억제한다는 연구결과들이 있으며, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)나 vancomycin-resistant enterococci (VRE) 등과 같은 항생제 내성 세균의 성장을 저해하는 것으로 밝혀졌다.^{1,31-33)}

하지만, 항균활성은 균주별로 다르게 나타났다. 예를 들면, Djoukeng의 연구결과에 의하면 *Syzygium guineense*로부터 추출한 oleanolic acid를 사용하여 *Escherichia coli* NEU1006에 대해 항균활성을 측정할 결과 oleanolic acid가 이 세균들에 대해 효과적인 항균활성을 보이지 않은 반면⁵⁾ Szakiel에 의하면 홍황초(*Calendula officinalis*)에서 분리한 oleanolic acid는 대조구에 비해 *E. coli*의 성장을 일정기간 저해하였다³⁴⁾. 이러한 상반되는 결과는 oleanolic acid에 대한 *E. coli* 균주별 저항성의 차이 때문인 것으로 사료된다. Fontanay 등은 이러한 oleanolic acid에 대한 균주별 항균활성 효능의 차이를 측정하기 위해 두 종류의 *S. aureus* 균주(*S. aureus* ATCC25923, *S. aureus* ATCC29213)에 대해 MIC를 측정할 결과, *S. aureus* ATCC25923은 MIC가 64 µg/ml였고 *S. aureus* ATCC29213의 MIC는 32 µg/ml로 나타나 균주별 차이가 있는 것으로 확인되었다¹⁾.

Hichri 등은 *E. coli*와 *Salmonella Typhi*에 대한 oleanolic acid의 MIC를 측정할 결과 각각 95 µg/mL와 65 µg/mL로 다소 높게 나타났다³⁵⁾. Szakiel 등은 그람음성세균 [*E. coli* (MIC = 35 µg/ml), *Yersinia enterocolitica* O:8 (MIC = 60 µg/ml), *Klebsiella pneumoniae* (MIC = 100 µg/ml), *Klebsiella oxytoca* (MIC = 125 µg/ml), *Shigella flexneri* (MIC = 50 µg/ml), *Shigella sonnei* (MIC = 55 µg/ml)]과 그람양성세균 [*Listeria monocytogenes* (MIC = 15 µg/ml), *Staphylococcus epidermidis* (MIC = 15 µg/ml)]에 대해 oleanolic acid의 항균활성을 비교한 결과 oleanolic acid는 그람양성세균에 대해 더 효과적인 것으로 나타났다³⁴⁾. 하지만 Rivero-Cruz 등의 연구에서 oleanolic acid와 그 유도체 간의 항균 활성을 비교한 결과, 그람양성세균인 *S. mutans*에 대해 oleanolic acid sodium salt의 항균활성이 oleanolic acid보다 100배 이상 효과가 높은 것으로 나타났고, 그람음성세균인

*Porphyromonas gingivalis*에 대한 항균활성도 약 100배 정도 증가하였다. 이는 oleanolic acid sodium salt 극성의 증가에 의해 나타난 것으로 생각된다³⁶⁾. 따라서, oleanolic acid의 유도체를 사용할 경우 그람음성세균에 대한 oleanolic acid의 항균활성은 더욱 증가할 것으로 사료된다. Capel 등 또한 *Mucor rouxii*를 이용한 biotransformation를 통해 oleanolic acid 유도체를 합성한 후 항균 활성을 측정할 결과, *Actinomyces naeslundii*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Enterococcus faecalis*, *P. gingivalis*, *Prevotella nigrescens*에 대해 항균 활성을 나타내는 것을 발견하였다²¹⁾. 따라서, oleanolic acid sodium salt를 *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *Shigella*와 같은 그람음성 식중독 세균에 적용할 경우 현재 연구된 항균활성보다 좀 더 높은 항균활성을 얻을 것으로 사료된다. 이에 대해 Ren 등은 oleanolic acid의 유도체인 ursolic acid를 사용하여 oleanolic acid가 *E. coli*의 biofilm 형성을 효과적으로 저해할 수 있는 것을 입증하였다³⁷⁾. 또한 NaCl과 oleanolic acid를 병합하여 사용할 경우에도 좀 더 효율적으로 식중독 세균을 저해할 수 있을 것으로 생각된다³⁸⁾.

Woldemichael 등은 oleanolic acid가 methicillin-sensitive *S. aureus* (MIC = 8 µg/ml)뿐만 아니라 MIC가 다소 높기는 하지만 methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA; MIC = 64 µg/ml)에 항균효과가 있는 것을 밝혀냈다³⁹⁾. 또한 *S. aureus*에 대한 ursolic acid (MIC: 8 µg/ml)의 항균활성을 oxacillin (MIC: <1 µg/ml)과 비교한 결과, *S. aureus*를 제어하기 위한 항생제 대체물질로서 ursolic acid가 사용될 수 있는 것으로 나타났다¹⁾. 또한 *L. monocytogenes*에 대한 chloramphenicol의 MIC (4.5 µg/ml)와 oleanolic acid의 MIC (15 µg/ml)를 비교한 결과, *L. monocytogenes*를 제어하기 위한 대체 항균물질로서 oleanolic acid가 활용될 수 있을 것으로 사료된다³⁴⁾.

세포독성

Fontanay 등의 연구에 의하면 oleanolic acid와 oleanolic acid 유도체(ursolic acid, betulinic acid)는 human keratinocytes (HaCaT)와 human pulmonary embryonic fibroblasts (MRC-5) 세포에 대한 독성이 없어 사람에게 사용하는 것이 안전하다고 판단되었다¹⁾. 이외에도 human normal liver cell line (QZG, L-02)에 대해서도 세포독성이 없는 것으로 나타났다⁴⁰⁾. 대사산물로 생성되는 H₂O₂는 DNA 손상을 유발할 수 있는데, oleanolic acid와 ursolic acid가 H₂O₂에 의한 leukemic cell line (L1210, K562, HL-60)의 DNA 손상으로 부터 보호하는 역할을 하였다⁴¹⁾. Horiuchi 등은 oleanolic acid의 항균효과가 이미 임상적으로 사용되고 있는 항균약품만큼 강하지는 않지만 이 성분의 독성이 낮으며, 실제로도 중국에서 oleanolic acid는 사람의 간질환을 치료하

기 위해 경구로 복용하는 약으로 사용되어왔기 때문에 이 물질을 사람의 감염 치료에 사용할 수 있을 것이라고 판단하였다^{3,32)}.

이상의 연구결과를 종합하여 볼 때 사람 세포에 대한 독성이 낮을 것으로 보여지는 oleanolic acid를 사람이나 식품에 적용 할 수 있을 것으로 사료된다.

항균기작

Oleanolic acid가 어떠한 기작을 통해서 세균의 생장에 영향을 주는 것인지에 대해서는 아직 상세히 밝혀지지는 않았지만 최근 oleanolic acid의 항균 기작을 분석하는 연구들이 활발히 진행되고 있고, 단순히 세균 세포를 사멸시키는 것 외에 다른 병원성 인자에 어떠한 영향을 미치는 지에 대한 연구도 진행되고 있다.

Grudniak 등은 oleanolic acid와 ursolic acid가 *E. coli*의 cysteine regulon과 스트레스 반응 유전자 발현에 미치는 영향을 분석하기 위해 oleanolic acid를 $0.15 \times \text{MIC}$, $0.3 \times \text{MIC}$ 농도를 사용하여 *E. coli*에 처리한 결과 cysteine regulon 발현이 저해되었고, stress에 의해 나타나는 DnaK 합성이 약하게 유도되었다⁴²⁾. 또한 oleanolic acid는 세포모양에도 영향을 미쳤는데, Szakiel 등의 연구에서 보면, $0.7 \times \text{MIC}$ 의 oleanolic acid농도에 노출된 *E. coli*는 oleanolic acid가 세포분열에 관여하는 PBP3 (penicillin binding protein 3) 단백질에 영향을 주어 세포의 모양이 길어졌고, 반대로 *Bacillus megaterium*은 PBP2에 대한 oleanolic acid의 영향 때문에 세포의 모양이 짧아졌다. 이상의 결과로 볼 때 oleanolic acid는 세포벽을 표적으로 하는 것으로 생각된다³⁴⁾.

Kurek 등은 oleanolic acid와 ursolic acid가 *L. monocytogenes*의 peptidoglycan 대사에 미치는 영향을 조사하였다⁴³⁾. *L. monocytogenes*가 oleanolic acid에 노출되었을 때 *L. monocytogenes*가 Triton X-100, lysozyme에 더 민감해졌으며, 세포벽의 자가분해가 억제되었고 이로 인해 peptidoglycan turnover가 줄어들어 최종적으로 peptidoglycan의 손실을 유발하는 것으로 나타나 oleanolic acid의 표적은 peptidoglycan 대사인 것으로 판단되었다. 이러한 이유로 외막이 peptidoglycan층을 감싸고 있는 세포벽 구조를 가지고 있는 그람음성세균에 대해서는 그람양성세균에 비해 oleanolic acid의 항균활성이 확연히 나타나지 않았다³²⁾.

요 약

Oleanolic acid는 다수의 식물 종에서 분리 되어 왔고 주로 유해한 영향이 없는 과일과 약초에 존재하기 때문에 전세계적으로 많은 나라에서 안전하게 소비되고 있으며, 현재는 화장품이나 약품에 사용되고 있다. Oleanolic acid는 peptidoglycan을 표적으로 하기 때문에 peptidoglycan이

세균외막에 덮여있는 그람음성세균인 *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *S. flexneri*, *S. sonnei*와 같은 세균에는 뚜렷한 oleanolic acid 항균활성이 관찰되지 않았다. 하지만 oleanolic acid의 유도체를 사용할 경우 그람음성세균에 대한 항균활성도 증가하였다. 반면 *S. aureus*와 *L. monocytogenes*와 같은 그람양성세균의 경우 peptidoglycan층이 세균외막에 덮여 있지 않기 때문에 oleanolic acid에 매우 민감하였다. 또한 oleanolic acid는 사람에 대한 세포독성 실험에서도 그 독성이 낮을 것으로 판단되었기 때문에 식중독 세균 제어를 목적으로 연구를 진행할 필요가 있으며, 이 결과들은 식품에 적용되거나 항생제 대체를 위한 치료목적으로도 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Fontanay, S., Grare, M., Mayer, J., Finance, C. and Duval, R.E.: Ursolic, oleanolic and betulonic acids: antibacterial spectra and selectivity indexes. *J. Ethnopharmacol.* **120**, 272-276 (2008).
- Yoon, Y. and Choi, K.H.: Antimicrobial activities of therapeutic herbal plants against *Listeria monocytogenes* and the herbal plant cytotoxicity on Caco-2 cell. *Let. Appl. Microbiol.* **55**, 47-55 (2012).
- Liu, J.: Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *J. Ethnopharmacol.* **49**, 57-68 (1995).
- Becker, H., Scher, J.M., Speakman, J.B. and Zapp, J.: Bioactivity guided isolation of antimicrobial compounds from *Lythrum salicaria*. *Fitoterapia.* **76**, 580-584 (2005).
- Djoukeng, J.D., Abou-Mansour, E., Tabacchi, R., Tapondjou, A.L., Bouda, H. and Lontsi, D.: Antibacterial triterpenes from *Syzygium guineense* (Myrtaceae). *J. Ethnopharmacol.* **101**, 283-286 (2005).
- Kuete, B., Wabo, G.F., Ngameni, B., Mbaveng, A.T., Metuno, R., Etoa, F.X., Ngadjui, B.T., Beng, V.P., Meyer, J.J. and Lall, N.: Antimicrobial activity of the methanolic extract, fractions and compounds from the stem bark of *Irvingia gabonensis* (Xonanthaceae). *J. Ethnopharmacol.* **114**, 54-60 (2007).
- Kuete, V., Eyong, K.O., Folefoc, G.N., Beng, V.P., Hussain, H., Krohn, K. and Nkengfack, A.E.: Antimicrobial activity of the methanolic extract and of the chemical constituents isolated from *Newbouldia laevis*. *Pharmazie.* **62**, 552-556 (2007).
- Cowan, M.M.: Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.* **12**, 564-82 (1999).
- Kontogianni, V.G., Exarchou, V., Troganis, A. and Gerothanassis, I.P.: Rapid and novel discrimination and quantification of oleanolic and ursolic acids in complex plant extracts using two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy-Comparison with HPLC methods. *Anal. Chim. Acta.* **635**, 188-195 (2009).
- Liu, J., Liu, Y.P. and Klaassen, C.D.: Protective effect of oleanolic acid against chemical-induced acute necrotic liver-injury in mice. *Acta Pharm. Sin.* **16**, 97-102 (1995).
- Hung, C.Y. and Yen, G.C.: Extraction and identification of

- antioxidative components of Hsian-tsau (*Mesona procumbens* Hemsl.). *Food Sci. Technol.* **34**, 306-311 (2001).
12. Yin, M.C. and Chan, K.C.: Nonenzymatic antioxidative and antiglycative effects of oleanolic acid and ursolic acid. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 7177-7181 (2007).
 13. Kinjo, J., Okawa, M., Udayama, M., Sohno, Y., Hirakawa, T., Shii, Y. and Nohara, T. Hepatoprotective and hepatotoxic actions of oleanolic acid-type triterpenoidal glucuronoids on rat primary hepatocyte cultures. *Chem. Pharm. Bull.* **47**, 290-292 (1999).
 14. Dharmappa, K.K., Cumar, R.V., Nataraju, A., Mohammed, R., Shivaprasad, H.V. and Vishwanath, B.S.: Anti-inflammatory activity of oleanolic acid by inhibition of secretory phospholipase A2. *Planta Med.* **75**, 211-215 (2009).
 15. Rodriguez, J.A., Astudillo, L. and Schmeda-Hirschmann, G.: Oleanolic acid promotes healing of acetic acid-induced chronic gastric lesions in rats. *Pharm. Res.* **48**, 291-294 (2003).
 16. Chiang, L.C., Chiang, W., Chang, M.Y., Ng, L.T. and Lin, C.C.: Antileukemic activity of selected natural products in Taiwan. *Am. J. Chin. Med.* **31**, 37-46 (2003).
 17. Farina, C., Pinz, M. and Pifferi, G.: Synthesis and anti-ulcer activity of new derivatives of glycyrrhetic, oleanolic and ursolic acids. *Farmaco.* **53**, 22-32 (1998).
 18. Ma, B.L. Hypolipidemic effects of oleanolic acid. *Trad. Med. Pharmacol.* **2**, 28-29 (1982).
 19. Gbaguidi, F., Accrombessi, G., Moudachirou, M. and Quetin-Leclercq, J.: HPLC quantification of two isomeric triterpenic acids isolated from *Mitracarpus scaber* and antimicrobial activity on *Dermatophilus congolensis*. *J. Pharmaceut. Biomed.* **39**, 990-995 (2005).
 20. Resende, F.A., Andrade Barcala, C.A.M., Silva Faria, M.C., Kato, F.H., Cunha, W.R. and Tavares, C.: Antimutagenicity of ursolic acid and oleanolic acid against doxorubicin-induced clastogenesis in Balb/c mice. *Life Sci.* **79**, 1268-1273 (2006).
 21. Capel, C.S., Souza, A.C.D., Carvalho, T.C., Sousa, J.P.B., Ambrosio, S.R., Martins, C.H.G., Cunha, W.R., Galan, R.H. and Furtado, N.A.J.C.: Biotransformation using *Mucor rouxii* for the production of oleanolic acid derivatives and their antimicrobial activity against oral pathogens. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **38**, 1493-1498 (2011).
 22. Fai, Y.M. and Tao, C.C.: A review of presence of oleanolic acid in natural products. *Nat. Proda Med.* **2**, 77-290 (2009).
 23. Fukushima, E.O., Seki, H., Ohyama, K., One, E., Umemoto, N., Mizutani, M., Saito, K. and Muranaka, T.: CYP716A subfamily members are multifunctional oxidases in triterpenoid biosynthesis. *Plant Cell Physiol.* **52**, 2050-2061 (2011).
 24. Cai, L. and Wu, C. D.: Compounds from *Syzygium aromaticum* processing growth inhibitory activity against oral pathogens. *J. Nat. Prod.* **59**, 987-990 (1996).
 25. Somova, L.I., Shode, F.O., Ramnanan, P. and Nadar, A. Anti-hypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from *Olea ueropaea*, subspecies africana leaves. *J. Ethnopharmacol.* **84**, 299-305 (2003).
 26. Somova, L.I., Shode, F.O. and Mipando, M.: Cardiotoxic and antidysrhythmic effects of oleanolic and ursolic acids, methyl maslinate and uvaol. *Phytomedicine.* **11**, 121-129 (2004).
 27. Sanchez-Avila, N., Priego-Capote, F., Ruiz-Jimenez, J., de Castro, M.D.: Fast and selective determination of triterpenic compounds in olive leaves by liquid chromatography-tandem mass spectrometry with multiple reaction monitoring after microwave-assisted extraction. *Talanta.* **79**, 40-48 (2009).
 28. Abe, F., Yamauchi, T., Nagao, T., Kinjo, J., Okabe, H., Higo, H. and Akahane, H.: Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. *Biol. Pharm. Bull.* **25**, 1485-1487 (2002).
 29. Sultana, N. and Ata, A.: Oleanolic acid and related derivatives as medicinally important compounds. *J. Enzym. Inhib. & Med. Chem.* **23**, 739-756 (2008).
 30. Razborsk, M.I., Voncina, D.B., Dolecek, V. and Voncina, E.: Determination of oleanolic, betulinic and ursolic acid in *Lamiaceae* and mass spectral fragmentation of their trimethylsilylated derivatives. *Chromatographia.* **67**, 433-440 (2008).
 31. Kozai, K., Suzuki, J., Okada, M. and Nagasaka, N.: Effect of oleanolic-acid-cyclodextrin inclusion compounds on carries by *in vitro* experiment and rat-carries model. *Microbios.* **97**, 179-188 (1999).
 32. Horiuchi, K., Shiota, S., Hatano, T., Yoshida, T., Kuroda, T. and Tsuchiya, T.: Antibacterial activity of oleanolic acid from *Salvia officinalis* and related compounds on vancomycin-resistant enterococci. *Biol. Pharm. Bull.* **30**, 1147-1149 (2007).
 33. Jiménez-Arellanes, A., Meckes, M., Torres, J.K. and Luna, H.J.: Antimycobacterial triterpenoids from *Lantana hispida* (*Verbenaceae*). *J. Ethnopharmacol.* **111**, 202-205 (2007).
 34. Szakiel, A., Ruszkowski, D., Grudniak, A., Kurek, A., Wolsk, K.I., Doligalska, M. and Janiszowska, W.: Antibacterial and antiparasitic activity of oleanolic acid and its glycosides isolated from marigold (*Calendula officinalis*). *Planta Med.* **74**, 1709-1715 (2008).
 35. Hichri, F., Jannet, H.B., Cheriaa, J., Jegham, S. and Mighri, Z.: Antibacterial activities of a few prepared derivatives of oleanolic acid and of other natural triterpenic compounds. *C.R.Chimie.* **6**, 473-483 (2003).
 36. Rivero-Cruz, J.F., Zhu, M., Kinghor, A.D. and Wu, C.D.: Antimicrobial constituents of Thompson seedless raisins (*Vitis vinifera*) against selected oral pathogens. *Phytochem. Lett.* **1**, 151-154 (2008).
 37. Ren D., Zuo R., Gonzles Barrios A. F., Bedzyk L. A., Eldbridge G. R., Pasmore M. E. and Wood T. K.: Differential gene expression for investigation of *Escherichia coli* biofilm inhibition by plant extract ursolic acid. *Appl. Environment. Microbiol.* **71**, 4022-4034 (2005).
 38. Yoon, Y. and Choi, K.H.: Antimicrobial activity of oleanolic acid on *Listeria monocytogenes* under sublethal stresses of NaCl and pH. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* **30**, 717-721 (2010).
 39. Woldemichael G.M., Singh M.P., Maiese, W.M. and Timmermann, B.N.: Constituents of antibacterial extract of *Caesalpinia paraguariensis* Burk. *Z. Naturforsch.* **58C**, 70-75 (2003).
 40. Wang, X., Ye, X., Chen, H.L., Bai, H., Liang, X., Zhang, X.D., Wang, Z., Li, W. and Hai, C.X.: Antioxidant activities of oleanolic acid *in vitro*: Possible role of Nrf2 and MAP kinases.

- Chem-Biol. Interact.* **184**, 328-337 (2010).
41. Ovesna, Z., Vachalkova, A., Horvathova, K. and Tothova, D.: Pentacyclic triterpenoic acids: new chemoprotective compounds. *Neoplasma.* **51**, 327-333 (2004).
 42. Grudniak, A.M., Kurek, A., szarlak, J. and Wolska, K.I. Ole-
anolic and ursolic acids influence affect the expression of the
cysteine regulon and the stress response in *Escherichia coli*.
Curr. Microbiol. **62**,1331-1336 (2011).
 43. Kurek, A., Grudniak, A.M., Szwed, M., Klicka, A., Samluk,
L., Wolska, K.I., Janiszowska, W. and Popowska, M.: Olean-
olic acid and ursolic acid affect peptidoglycan metabolism in
Listeria monocytogenes. *Anton Leeuw.* **97**, 61-68 (2010).