

PROPRIETÀ E LIMITI DEGLI OLI ESSENZIALI

Letizia Angiolella

Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sapienza Università di Roma, Roma

Introduzione

L'utilizzo da millenni delle piante medicinali descrive una lunga storia dell'interazione umana con l'ambiente. Le piante usate per la medicina tradizionale contengono una grande varietà di sostanze che possono essere usate per trattare differenti malattie infettive. In questi ultimi anni lo studio di molecole di origine naturale ha acquisito un forte interesse a causa dello sviluppo sempre più diffuso di microrganismi, come funghi e batteri, resistenti ai farmaci utilizzati nelle terapie antinfettive. Gli Oli Essenziali (OE) e i loro componenti ottenuti dalla distillazione di alcune parti vegetali hanno dimostrato di possedere diverse attività come quella antimicrobica e antiossidante, antitumorale. È necessario però, fare attenzione perché molto spesso le concentrazioni degli OE utilizzate ai fini delle attività biologiche sono piuttosto elevate rispetto a quelle utilizzate con farmaci di sintesi. Concentrazioni elevate possono provocare tossicità cellulare.

Oli essenziali

Le piante medicinali e le erbe rappresentano fonti di molecole attive che potrebbero diventare composti fondamentali per lo sviluppo di nuovi prodotti farmaceutici. Infatti, producono una grande varietà di sostanze volatili alifatiche e cicliche che formano complesse misture chiamate oli essenziali (OE) (1, 2). Queste miscele sono una fonte di composti biologicamente attivi e con dimostrata attività antimicrobica, antifungina, antivirale, e antiossidante (3). Inoltre, alcuni OE sono stati anche usati nel trattamento del cancro (4), nella conservazione degli alimenti, nell'aromaterapia e infine nell'industria cosmetica. Gli OE disponibili in commercio derivati da piante aromatiche come *Melaleuca alternifolia* (albero del tè), *Thymus vulgaris* (timo), *Mentha piperita* (menta), *Rosmarinus officinalis* (rosmarino), *Citrus aurantium* (olio di arancio amaro) e *Cymbopogon martinii* (olio di palmarosa) sono stati ampiamente utilizzati per il trattamento delle infezioni topiche, sia batteriche che fungine (3). Inoltre, il *Coriandrum sativum* è raccomandato per disturbi dispeptici, perdita di appetito, convulsioni, insonnia e ansia oltre che per la sua attività antimicrobica (5, 6). Ancora, gli OE di *Aluminum cyminum* (cumino), *Ocimum basilicum* (basilico), *Myrtus communis* (mirto), *Origanum vulgare* (origano), *Mentha suaveolens*, *Coridothymus capitatum* sono noti per le proprietà antimicrobiche e antiossidanti (7-11).

Proprietà antimicrobiche

I batteri, i funghi e i virus sono responsabili di numerose infezioni umane. Nel corso degli anni sono stati sviluppati farmaci antimicrobici efficaci; tuttavia, è stato osservato un drammatico aumento della farmaco-resistenza. Sebbene gli antibiotici siano stati efficaci per lungo tempo nella lotta contro le malattie infettive, la resistenza a questi farmaci ha portato anche al riemergere di vecchie malattie infettive. Per questo motivo, è necessario trovare nuovi composti

antimicrobici. Tra i nuovi composti di origine naturale, alcuni OE hanno mostrato attività antibatterica contro batteri sia Gram-positivi che Gram-negativi. In particolare, gli OE di *Melaleuca alternifolia*, *Coriandrum sativum* e *Myrtus communis* presentano un forte attività antimicrobica per esempio nei confronti di batteri Gram-positivi come *Staphylococcus epidermidis*, un microrganismo presente sulla cute, in grado di aderire alle superfici e formare biofilm, oppure come *Staphylococcus aureus*, in grado di causare diverse patologie tra cui malattie di origine alimentare e infezioni che possono essere cutanee, o localizzate ai tessuti profondi, potenzialmente letali. Questi stessi OE hanno mostrato un'elevata attività antimicrobica anche nei confronti di batteri Gram-negativi multiresistenti, come *Escherichia coli*, presente nella microflora intestinale della maggior parte degli animali e degli esseri umani e, comunemente associato a infezioni del tratto urinario. Inoltre, gli OE di *Melaleuca alternifolia* e *Coriandrum sativum* in particolare risultano attivi nei confronti di *Klebsiella pneumoniae* e/o di *Acinetobacter baumannii*, agenti coinvolti nelle infezioni multiresistenti nosocomiali, o opportunistiche (12).

Tra i diversi microrganismi, i funghi occupano un ruolo importante in quanto sono causa molto spesso di infezioni sia nell'uomo che negli animali. Le infezioni micotiche si differenziano in base al coinvolgimento del distretto anatomico. L'attività antimicotica di molti OE è stata studiata essenzialmente su *Candida* spp., su *Criptococcus* spp., su dermatofiti e anche su *Malassezia furfur*.

Candida albicans è il fungo dimorfo opportunisto più frequentemente isolato nell'uomo. È noto per causare un ampio spettro di micosi, che vanno dalle infezioni dei tessuti profondi alle infezioni superficiali della pelle e delle mucose (13). Sebbene *C. albicans* rappresenti la specie più isolata, c'è un significativo aumento della frequenza delle infezioni di specie *Candida* non *albicans*, come *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. krusei*. Diversi studi hanno messo in evidenza l'attività antimicotica degli OE di *Mentha suaveolens*, di *Coridothymus capitatus*, di *Origanum hirtum* e di *Rosmarinum officinalis* sia nei confronti di *C. albicans* che di altre specie di *Candida* risultando particolarmente attivi (11, 14). Inoltre l'OE di *Mentha suaveolens* è risultato attivo nei confronti di *Cryptococcus neoformans*, un lievito capsulato, uno dei principali agenti patogeni nell'uomo, che causa la maggior parte delle infezioni nei pazienti immunocompromessi, compresi quelli infetti da HIV. Lo stesso OE è risultato attivo anche nei confronti di alcuni funghi filamentosi quali *Trichophyton mentagrophytes* e *Microsporum canis* in grado di infettare i tessuti cheratinizzati di esseri umani e animali provocando infezioni cutanee (15).

E infine gli OE sono stati saggati anche nei confronti dei lieviti appartenenti al genere *Malassezia* che comprende un gruppo di lieviti lipofili e per lo più dipendenti dai lipidi riconosciuti come membri del normale microbioma cutaneo presente sia nell'uomo che negli animali (16). *Malassezia* è un lievito opportunisto e in determinate condizioni, può causare pitiriasi versicolor e follicolite, può essere associata a dermatite seborroica o esacerbare diverse malattie della cute come la dermatite atopica (17, 18). Gli OE di *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris* sono stati testati su 27 isolati di *Malassezia furfur* risultando più attivi specialmente nei confronti di isolati clinici resistenti al fluconazolo (10).

Sinergismo

Una strategia impiegata per superare i meccanismi di resistenza è stata l'uso di combinazioni di farmaci, come i beta-lattamici insieme a inibitori o combinazioni di beta-lattamasi di diverse classi di farmaci (19). Infatti, diversi estratti vegetali hanno mostrato un'attività sinergica "in vitro" quando utilizzati in combinazione con diversi farmaci contro differenti microrganismi e potrebbero rappresentare un nuovo approccio alternativo al trattamento delle malattie infettive. In una combinazione, l'interazione tra antimicrobici può portare a tre diversi risultati, ovvero

sinergico, additivo o antagonista. La sinergia si ottiene combinando due composti antimicrobici che producono un'attività antibatterica maggiore della somma dell'attività antibatterica dei singoli componenti. Un effetto additivo viene prodotto combinando antimicrobici che producono un effetto antimicrobico uguale alla somma dei singoli composti. Un effetto antagonista si traduce in una diminuzione dell'attività antimicrobica di due composti in combinazione rispetto alla loro attività antimicrobica individuale (20). Gli effetti sinergici possono essere prodotti se i componenti di un olio essenziale influenzano diversi target o interagiscono tra loro per migliorare la solubilità e quindi aumentare la biodisponibilità di una o più sostanze di un OE. Inoltre, quando gli antibiotici sono combinati con un agente che antagonizza i meccanismi di resistenza batterica può portare a sinergie (21). Sono stati studiati diversi OE, ma in particolare è stato dimostrato con diverse specie patogene che la combinazione dell'OE di *Mentha suaveolens* in combinazione con differenti farmaci antimicrobici è in grado di avere un effetto sinergico. Ad esempio è stato dimostrato che l'OE suddetto in associazione con il fluconazolo in isolati clinici di *Candida albicans* resistenti ai farmaci antimicotici ha un effetto sinergico; lo stesso effetto si ha in combinazione con la gentamicina in *Klebsiella pneumoniae*, opportunistica nosocomiale delle vie respiratorie. Possibili attività sinergiche di questo olio essenziale si possono ottenere anche con patogeni intracellulari obbligati come il virus *Herpes simplex* di tipo 1. L'OE di *Mentha suaveolens* in combinazione con acyclovir è in grado di inibire la replicazione virale. Lo stesso OE in associazione con eritromicina inibisce la replicazione di *Chlamydia trachomatis* (13, 22-24). Come riportato in precedenza, generalmente il sinergismo è studiato tra gli OE e i farmaci di sintesi, ma alcuni studi sono stati eseguiti valutando il potenziale sinergismo di differenti OE combinati insieme, rappresentando quindi una strategia alternativa quando non è possibile utilizzare farmaci di sintesi. È stato dimostrato che tre diversi OE sono in grado di inibire l'attività *in vitro* di *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, un fitopatogeno coinvolto nella batteriosi del kiwi abbassando la carica infettante di circa 2 logaritmi in 30 min (25). Mentre la combinazione tra gli OE di *Pelargonium capitatum* e *Cymbopogon martinii* alle concentrazioni di sub-MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*, Concentrazione Minima Inibente) sono in grado di uccidere *C. albicans* dopo solo 2 ore di contatto (26).

Citotossicità

Lo studio dell'attività antimicrobica *in vitro* degli OE può presentare delle criticità:

- Le concentrazioni degli OE utilizzate per avere attività biologica molto spesso sono molto elevate rispetto a quelle utilizzate con i farmaci di sintesi, e possono raggiungere l'ordine di milligrammi/mL;
- La composizione chimica degli OE è molto variabile. La grande variabilità dipende da molteplici fattori quali ad esempio: il periodo della raccolta, il terreno di crescita, i tempi di estrazione, che possono modificare profondamente le caratteristiche organolettiche di un OE per cui è assolutamente necessario standardizzare la loro preparazione (27);
- Essendo fitocomplessi estremamente volatili, è assolutamente necessario valutare il loro grado di citotossicità eseguendo dei test *in vitro*.

A tale riguardo l'attività citotossica è stata valutata per gli OE di *Coridothymus capitatum*, *Mentha suaveolens*, *Rosmarinum officinalis* e *Origanum hirtum* nei confronti di diverse linee cellulari come quelle di cheratinociti umani (HaCaT) e di cellule tumorali di polmone umano (A549). In entrambi i casi si è ottenuta una inibizione della crescita cellulare dipendente dalla concentrazione degli OE ($\mu\text{g/mL}$) e dalla durata del tempo dei diversi trattamenti.

In generale, le cellule HaCaT non tumorali, presentano una maggiore sensibilità ai trattamenti rispetto alla linea cellulare tumorale A549. I valori di IC₅₀ (concentrazione inibente di un inibitore enzimatico necessaria per inibire il 50% del bersaglio) rientrano nei criteri del National Cancer Institute statunitense che sostengono che l'attività citotossica di un fitocomplesso è considerata significativa quando l'IC₅₀ è <30 µg/mL (28). Alcuni OE, ad esempio quelli di *Coridothymus capitatum* e *Origanum hirtum*, potrebbero essere dannosi perché presentano valori di IC₅₀ compresi tra 100 e 1000 µg/mL (11). Quindi il loro utilizzo deve avvenire a concentrazioni basse.

Conclusioni

Le sostanze di origine naturale, in particolare gli OE possono rappresentare un supporto ai farmaci convenzionali in quanto possiedono molteplici attività biologiche, in particolare sono in grado di presentare una significativa attività antimicrobica, specialmente nei confronti di microrganismi farmaco resistenti. Inoltre, in associazione con i farmaci in alcuni casi sono in grado di produrre un effetto sinergico. Uno dei limiti di queste sostanze è rappresentato dalla loro elevata variabilità per cui è fondamentale la loro standardizzazione durante la preparazione, perché rappresenta una delle fasi più importanti per non avere OE con attività completamente diverse. Infine è di fondamentale importanza verificare sempre l'attività citotossica sia *in vitro* che *in vivo* perché l'utilizzo a concentrazioni elevate potrebbe provocare danni cellulari.

Bibliografia

1. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol* 1999;86(6):985-90.
2. Rios JL, Recio MC. Medicinal plants and antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol* 2005;100(1-2):80-4.
3. Solorzano-Santos F, Miranda-Navales MG. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol* 2012;23(2):136-41.
4. Gautam N, Mantha AK, Mittal S. Essential oils and their constituents as anticancer agents: a mechanistic view. *Biomed Res Int* 2014;154106.
5. Emamghoreishi M, Khasaki M, Aazam MF. *Coriandrum sativum*: evaluation of its anxiolytic effect in the elevated plus-maze. *J Ethnopharmacol* 2005;96(3):365-70.
6. Silva F, Ferreira S, Queiroz JA, Domingues FC. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry. *J Med Microbiol* 2011; 60(10):1479-86.
7. Iacobellis NS, Lo Cantore P, Capasso P, Senatore F. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. *J Agric Food Chem* 2005;53(1):57-61.
8. Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem* 2008;108(3):986-95.
9. Ragno R, Sivric S, Sartorelli G, Serilli A, Vavala E, Angiolella L. *In vitro* activity of essential oil of *Myrtus communis* L. against *Candida albicans*. *International Journal of Essential Oil Therapeutics* 2008;2:156-57.
10. Vinciguerra V, Rojas F, Tedesco V, Giusiano G, Angiolella L. Chemical characterization and antifungal activity of *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* essential oils and carvacrol against *Malassezia furfur*. *Nat Prod Res* 2019;33(22):3273-77.

11. Spagnoletti A, Guerrini A, Tacchini M, Vinciguerra V, Leone C, Maresca I, Simonetti G, Sacchetti G, Angiolella L. Chemical Composition and Bio-efficacy of Essential Oils from Italian Aromatic Plants: *M. suaveolens*, *C. capitatus*, *O. hirtum* and *R. officinalis*. *Nat Prod Commun* 2016;11(10):1517-20.
12. Scazzocchio F, Garzoli S, Conti C, Leone C, Renaioli C, Pepi F, Angiolella L. Properties and limits of some essential oils: chemical characterization, antimicrobial activity, interaction with antibiotics and cytotoxicity. *Nat Prod Res* 2016;30(17):1909-18.
13. Calderone R (Ed). *Candida and Candidiasis*. Washington DC: ASM Press; 2002.
14. Pietrella D, Angiolella L, Vavala E, Rachini A, Mondello F, Ragno R, Bistoni F, Vecchiarelli A. Beneficial effect of *Mentha suaveolens* essential oil in the treatment of vaginal candidiasis assessed by realtime monitoring of infection. *BMC Complement Altern Med* 2011;28;11-8.
15. Angiolella L, Vavala E, Sivric S, D'Auria FD, Ragno R. *In vitro* activity of *Mentha suaveolens* essential oil against *Cryptococcus neoformans* and dermatophytes. *International Journal of Essential Oil Therapeutics* 2010;4:35-6.
16. Cabanes FJ. Malassezia yeasts: how many species infect humans and animals? *PLOS Pathog* 2014;10(2):e1003892.
17. Saunders CW, Scheynius A, Heitman J. *Malassezia* fungi are specialized to live on skin and associated with dandruff, eczema, and other skin diseases. *PLoS Pathog* 2012;8(6):e1002701.
18. Angiolella L, Leone C, Rojas F, Mussin J, de los Angeles Sosa M, Giusiano G. Biofilm, adherence and hydrophobicity as virulence factors in *Malassezia furfur*. *Med Mycol* 2018;56(1):110-6.
19. Rey-Jurado E, Tudó G, de la Bellacasa JP, Espasa M, González-Martín J. *In vitro* effect of three-drug combinations of antituberculous agents against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2013;41(3):278-80.
20. Kalan L and Wright GD. Antibiotic adjuvants: multicomponent anti-infective strategies. *Expert Rev Mol Med* 2011;13;e5.
21. AL-Ani I, Zimmermann Z, Reichling J, Wink M. Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens. *Phytomed* 2015;22(2):245-55.
22. Stringaro A, Vavala E, Colone M, Pepi F, Mignogna G, Garzoli S, Cecchetti S, Ragno R, Angiolella L. Effects of *Mentha suaveolens* essential oil alone or in combination with other drugs in *Candida albicans*. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014;125904.
23. Civitelli L, Panella S, Marcocci ME, De Petris A, Garzoli S, Pepi F, Vavala E, Ragno R, Nencioni L, Palamara AT, Angiolella L. *In vitro* inhibition of herpes simplex virus type 1 replication by *Mentha suaveolens* essential oil and its main component piperitenone oxide. *Phytomed* 2014;21(6):857-65.
24. Sessa R, Pietro M, De Santis F, Filardo S, Ragno R, Angiolella L. Effects of *Mentha suaveolens* Essential Oil on *Chlamydia trachomatis*. *Biomed Res Int* 2015;2015:508071.
25. Vavala E, Passariello C, Ragno R, Pepi F, Garzoli S, Colone M, Stringaro A, Angiolella L. Antimicrobial activity of essential oils against *Pseudomonas syringae* pathovar actinidiae (PSA). *Nat Prod Res* 2016;30(4):412-8.
26. Angiolella L. Synergistic activity of Pelargonium capitatum and Cymbopogon martini essential oils against *C. albicans*. *Nat Prod Res* 2020;25;1-5.
27. Garzoli S, Pirolli A, Vavala E, Di Sotto A, Sartorelli G, Bozovic M, Angiolella L, Mazzanti G, Pepi F, Ragno R. Multidisciplinary approach to determine the optimal time and period to extract the essential oil from *Mentha suaveolens* Ehrh. *Molecules* 2015;20(6):9640-96.
28. Talib WH, Mahasneh AM. Antiproliferative activity of plant extracts used against cancer in traditional medicine. *Sci Pharm* 2010;78(1):33-45.