

Capítulo 4

Aceites esenciales como potenciales nutraceuticos

Ariadna Thalía Bernal Mercado
Carmen Lizette del Toro Sánchez
*Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos
Universidad de Sonora*

Resumen

Los aceites esenciales son líquidos concentrados de mezclas complejas de compuestos volátiles y se pueden extraer de varios órganos vegetales por métodos como hidrodestilación y destilación por arrastre con vapor. Los aceites esenciales son una excelente fuente de compuestos bioactivos principalmente terpenos y terpenoides. Poseen numerosas propiedades bioactivas como antioxidantes, antimicrobianos, antiinflamatorias, anticancerígenas, entre otras que pueden ser aprovechadas para la formulación de nutraceuticos. Por lo tanto, este capítulo proporciona información sobre algunos aceites esenciales, sus fuentes, su composición, métodos de extracción y bioactividad para ser utilizados como potenciales nutraceuticos.

Introducción

La esperanza de vida a nivel mundial ha ido en aumento; sin embargo, el envejecimiento de la población también ha llevado a una alta prevalencia de enfermedades crónicas como cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, obesidad y síndrome metabólico. Se sabe que factores modificables del estilo de vida como poca actividad física, hábitos alimenticios poco saludables, alto peso corporal, tabaquismo y alcoholismo son factores determinantes en el desarrollo de enfermedades crónicas. Existe una clara relación entre los malos hábitos alimenticios y el desarrollo de enfermedades. En este contexto, la declaración de Hipócrates “que tu alimento sea tu medicina y tu medicina sea tu alimento” establece la relación entre los alimentos y los fármacos para una buena salud.

Un término que une tanto a alimentos como a fármacos es nutraceutico. La definición de nutraceutico se refiere a “un alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios a la salud (además de los de nutrir) incluida la prevención o tratamiento de enfermedades”. Los nutraceuticos no son considerados ni como alimentos ni medicinas, más bien son suplementos alimenticios y son promotores de la salud que pueden ser utilizados por gran parte de la población sin receta. Generalmente, los nutraceuticos son presentados como una cápsula, tableta o como un alimento. El término nutraceutico es utilizado ampliamente en el mercado, pero no tiene una definición legal y no están regulados en la mayoría de los países. Algunos países los consideran dentro de la legislación general para productos a base de hierbas con algún término diferente como drogas botánicas o fitomedicina. Numerosos estudios científicos han mostrado resultados prometedores de los nutraceuticos basados en plantas para prevenir el estrés oxidativo y para tratar varias enfermedades como cáncer, enfermedades cardiovasculares o neurodegenerativas, entre otras.

Con el aumento en la población, el avance tecnológico y científico y el gran potencial de los fármacos sintéticos, han tomado mayor predominancia en el tratamiento de enfermedades en las últimas décadas. Sin embargo, en la actualidad los consumidores exigen productos más naturales y más seguros ya que algunos medicamentos tradicionales pueden causar fuertes efectos secundarios y hay resistencia a múltiples fármacos. En este sentido, numerosos estudios han impulsado la búsqueda de compuestos bioactivos presentes en plantas con funciones terapéuticas prometedoras para ser utilizados como nutraceuticos.

Desde la antigüedad, la humanidad ha utilizado lo que le proporciona la naturaleza para alimentarse y tratar diversas enfermedades. Al comienzo de la era de la química médica, muchos de los medicamentos desarrollados eran productos naturales y eran principalmente agentes derivados de plantas. El uso de plantas medicinales se ha transmitido a través de generaciones y ha jugado un papel importante en casi todas las culturas a lo largo del tiempo. Incluso, las moléculas derivadas de plantas medicinales han servido como base para la síntesis de fármacos. Específicamente, los aceites esenciales obtenidos de plantas medicinales son fuente de numerosos compuestos bioactivos de gran interés en el área clínica.

Los aceites esenciales son líquidos aceitosos volátiles caracterizados por poseer un fuerte aroma responsable de las fragancias de las flores y otras plantas. Están constituidos por una mezcla compleja de compuestos de bajo peso molecular como hidrocarburos, terpenos, terpenoides y sus derivados. Son extraídos de diferentes partes de las plantas, por ejemplo, hojas, cáscaras, cortezas, flores, capullos, semillas, a través de destilación al vapor, hidrodestilación o extracción con disolventes. Son metabolitos secundarios de plantas aromáticas y medicinales, producto del mecanismo de defensa como respuesta a factores ambientales.

Los aceites esenciales han sido ampliamente utilizados como saborizantes y aromatizantes en perfumería, cosmética y en la industria alimentaria debido a que son generalmente reconocidos como seguros. El mercado actual de los aceites esenciales indica que la producción y el consumo de aceites esenciales está aumentando en todo el mundo. Sin embargo, sus aplicaciones en el área clínica todavía son limitadas. Las investigaciones actuales buscan establecer los posibles efectos terapéuticos de los aceites esenciales para prevenir y aliviar enfermedades ya que poseen diversas propiedades biológicas y farmacológicas como antioxidante, antimicrobiana, anticancerígena, antiinflamatoria, entre otras, atribuidas principalmente a la estructura y características de sus compuestos mayoritarios. En este capítulo se describirán los principales componentes de los aceites esenciales, sus métodos de extracción y las propiedades bioactivas que le permiten ser considerados como prometedores nutraceuticos.

Fuentes y Composición de Aceites Esenciales

Los aceites esenciales pueden ser sintetizados por varios órganos de las plantas, como cáscaras, flores, hojas, tallos, ramitas, semillas, frutos, raíces, madera o corteza, y se almacenan en células secretoras, cavidades, canales, células epidérmicas o tricomas glandulares. En la tabla 4.1 se muestran algunas partes de las plantas y los tipos de aceites esenciales que se obtienen de ellas.

Tabla 4.1 Parte de la planta que contiene aceites esenciales.

Parte de la planta	Aceites esenciales
Hojas	Albahaca, laurel, canela, salvia común, eucalipto, hierba de limón, citronela, menta, orégano, pachulí, hierbabuena, pino, romero, menta verde, árbol de té, tomillo, romero.
Semillas	Almendra, anís, cardamomo, zanahoria, apio, cilantro, comino, nuez moscada, perejil, hinojo.
Corteza	Cassia, canela, sasafrás.
Flores	Manzanilla, salvia, clavo, comino, geranio, jazmín, lavanda, mejorana, naranja, rosa, pachulí, siempreviva, neroli.
Raíces	Jengibre, cúrcuma, valeriana, vetiver, nardo, angélica.
Cáscaras	Bergamota, pomelo, limón, lima, naranja, mandarina.

Algunas familias importantes en la producción de aceites esenciales con valor medicinal e industrial son *Alliaceae*, *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Lamiaceae*, *Myrtaceae*, *Poaceae* y *Rutaceae*. Las plantas del género *Lamiaceae* como *Mentha piperita* (menta), *Rosmarinus officinalis* (romero), *Ocimum basilicum* (albahaca), *Salvia officinalis* (salvia), *Origanum vulgare* (oregano), *Melissa officinalis* (melissa), *Satureja hortensis* (ajedrea de jardín), *Thymus vulgaris* (tomillo) y *Lavandula angustifolia* (lavanda) son conocidas por sus propiedades quimioterapéuticas, anticancerígenas, antioxidantes y antimicrobianas. Igualmente, el aceite de canela obtenido de *Cinnamomum verum* de la familia *Lauraceae* muestra potencial antimicrobiano y anticancerígeno. Algunos aceites antimicrobianos, antitumorales y anticancerígenos de la familia *Myrtaceae* son *Melaleuca alternifolia* (árbol de té), *Eucalyptus globulus* (eucalipto), *Syzygium aromaticum* (clavo) y *Myrtus communis* (arrayán).

Los aceites esenciales pueden estar constituidos de 20 a 100 compuestos pertenecientes a una gran variedad de clases químicas, aunque en la mayoría de las veces uno o dos compuestos son los que predominan en mayor cantidad y son los responsables de su actividad biológica. De manera general, los componentes principales de los aceites esenciales son terpenos (monoterpenos y sesquiterpenos) y sus derivados oxigenados (isoprenoides), aunque también podemos encontrar fenilpropanoides y compuestos aromáticos (aldehídos, alcohol, fenol, etc.) y alifáticos.

Los terpenos son la clase más común de compuestos químicos encontrados en los aceites esenciales (tabla 4.2). Están formados por varias unidades de isopreno (unidad base de 5 carbonos). Los aceites esenciales consisten principalmente en monoterpenos que contienen dos unidades de isopreno (10 carbonos) y de sesquiterpenos que presentan tres unidades de isopreno (15 carbonos). Algunos ejemplos de estos compuestos son pineno, limoneno, mirceno, linalool, terpineno, elemeno, cariofileno, farneseno. Los terpenoides son terpenos que contienen oxígeno en su estructura y son también muy abundantes en los aceites esenciales. Los terpenoides pueden clasificarse de acuerdo con el grupo funcional que contenga el oxígeno de la siguiente manera: 1. Fenol: timol, eugenol, carvacrol. 2. Alcohol: α -terpineol, borneol, lavanduol, nerolidol, 3. Aldehídos: citral, citronelal, cinnamaldehído, 4. Cetonas: carvona, camfor, pulegona, 5. Esteres: acetato de geranil, acetato de linalil, entre otros. En la figura 4.1 se muestran las estructuras de los compuestos mayoritarios en algunos aceites esenciales.

Tabla 4.2. Compuestos mayoritarios encontrados en algunos aceites esenciales.

Aceite esencial	Nombre científico	Compuesto mayoritario	Referencia
Albahaca	<i>Ocimum basilicum</i>	Linalool	(Amor <i>et al.</i> , 2021)
Clavo	<i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol	(Kačániová <i>et al.</i> , 2021; Kaur, Kauschal, & Rani, 2019)
Hierba de limón	<i>Cymbopogon citratus</i>	Geraniol y citral	(Leimann, Gonçalves, Machado, & Bolzan, 2009; Majewska, Kozłowska, Gruszczynska-Sekowska, Kowalska, & Tarnowska, 2019)

Aceite esencial	Nombre científico	Compuesto mayoritario	Referencia
Menta	<i>Mentha piperita</i>	Mentol	(Beigi, Torki-Harchegani, & Ghasemi Pirbalouti, 2018; Wu <i>et al.</i> , 2019)
Orégano	<i>Origanum vulgare</i> <i>Lippia graveolens</i>	Carvacrol	(Cui, Zhang, Li, & Lin, 2019)
Canela	<i>Cinnamomum verum</i>	Cinnamaldehído y eugenol	(Bai <i>et al.</i> , 2021; Jiang, Wang, Li, Li, & Huang, 2020)
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i>	1,8-cineol y α -pineno	(Jafari-Sales & Pashazadeh, 2020; Sadeh <i>et al.</i> , 2019)
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Carvacrol y timol	(Alsaraf, Hadi, Al-Lawati, Al Lawati, & Khan, 2020; Tammar <i>et al.</i> , 2019)
Savia	<i>Salvia officinalis</i>	α -pineno, β -pineno, limoneno, y 1,8-cineol	(El Euch, Hassine, Cazaux, Bouzouita, & Bouajila, 2019; Vosoughi, Gomarian, Pirbalouti, Khaghani, & Malekpoor, 2018)

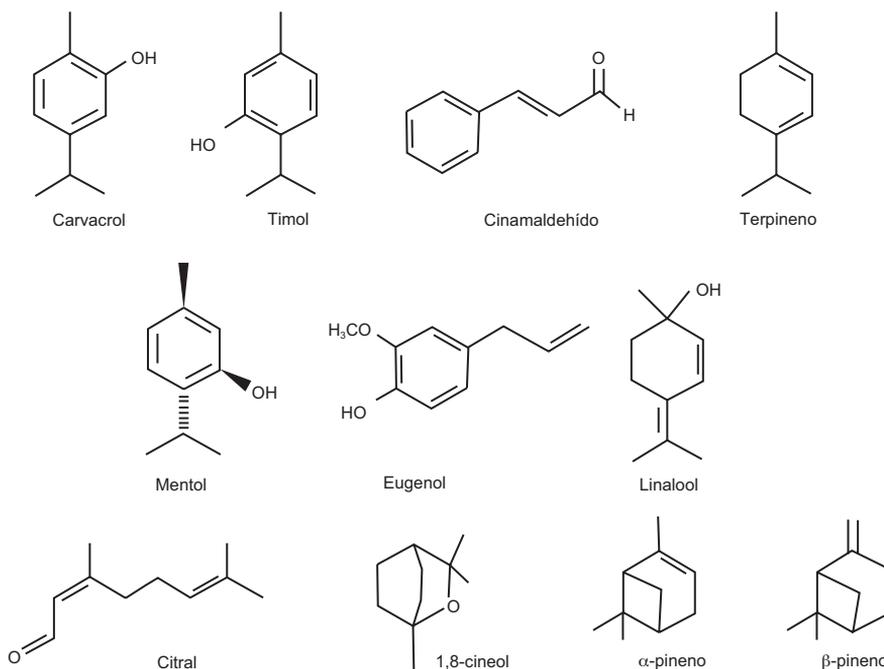


Figura 4.1. Principales compuestos encontrados en aceites esenciales.

Muchos factores como la variación genética de la planta, factores climáticos, ubicación geográfica, variedad de la planta, variaciones estacionales, condiciones como estrés y nutrición de la planta que afecten el crecimiento o madurez, periodo de recolección, almacenamiento posterior a la cosecha e incluso las técnicas de extracción pueden afectar la cantidad y el perfil de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales. Por ejemplo, se observó una amplia variabilidad entre la composición del aceite esencial de siete poblaciones de orégano iraní de diferentes ambientes, zonas geográficas y años de cosecha, pero bajo las mismas condiciones de suelo, temperatura y humedad. Específicamente, la variación del contenido de carvacrol en los aceites osciló entre 0.36% y 46.8%. Las diferencias en los componentes de los aceites esenciales de orégano pueden verse más afectadas por factores genéticos que por orígenes geográficos. Otro estudio informó una variación grande en la composición cualitativa y cuantitativa del aceite de *Origanum vulgare* según el año de cosecha; por ejemplo, el contenido de carvacrol varió de un año a otro de 1.7 a 2.7%. Por lo tanto, resulta crucial realizar una caracterización fitoquímica y biológica de los aceites esenciales antes de sus posibles aplicaciones en la industria, ya que el contenido de los compuestos y la actividad biológica pueden variar naturalmente de diferentes fuentes.

Técnicas de Extracción de Aceites Esenciales

Los aceites esenciales se pueden extraer de varias plantas mediante una variedad de métodos de extracción. Numerosos factores pueden influir en la calidad del aceite esencial incluidos la parte de la planta, los solventes, el tiempo, la temperatura y el procedimiento utilizado durante la extracción. Una técnica inadecuada podría alterar la composición química del aceite y en consecuencia sus propiedades bioactivas. Las técnicas de extracción se pueden clasificar en métodos convencionales y alternativos. Dentro de los métodos convencionales se encuentran la destilación al vapor, la hidrodestilación y la extracción por solventes y son las técnicas más comúnmente utilizadas. Algunas desventajas de las extracciones convencionales son la baja eficiencia, el largo tiempo de extracción, las grandes cantidades de solventes y los residuos tóxicos de solventes. Como alternativa, se han desarrollado algunas técnicas para superar estos problemas como nueva tecnología limpia, económica

y altamente eficiente con la obtención de un producto de alta calidad. Entre ellas podemos encontrar la extracción por microondas sin disolventes, la extracción por fluidos supercríticos, la extracción asistida por ultrasonidos y la extracción asistida por electricidad pulsada.

Destilación por arrastre con vapor

El método más común, simple, barato y utilizado para extraer aceites esenciales de plantas a gran escala es la destilación por arrastre con vapor. El proceso consiste en colocar la muestra de planta en un recipiente y calentarla por vapor de agua producido en otro recipiente (figura 4.2). El vapor llevará los compuestos volátiles del material hacia un condensador, donde se enfriarán y volverán a su estado líquido. El calor debe ser suficiente para descomponer y reventar la estructura celular del material vegetal para liberar los compuestos aromáticos o aceites esenciales.

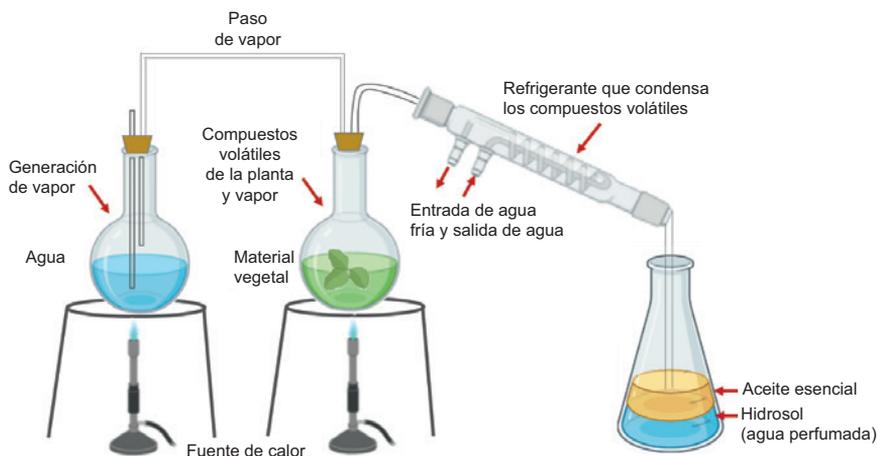


Figura 4.2. Esquema del proceso de destilación por arrastre de vapor para la obtención de aceites esenciales.

Hidrodestilación

La hidrodestilación es un método tradicional para la extracción de compuestos bioactivos principalmente aceites esenciales de las plantas. Este método es una variante del proceso con arrastre por vapor, no se utilizan disolventes orgánicos y se puede realizar sin deshidratar la muestra. Este proceso comprende la inmersión completa del material vegetal directamente en agua, la cual es calentada hasta ebullición (100 °C) a través de fuego directo o por algún método de calefacción. La generación de vapor se produce dentro del propio recipiente de destilación. El agua caliente y el vapor actúan como los principales factores que influyen en la liberación de compuestos bioactivos del tejido vegetal. El enfriamiento indirecto por agua condensa la mezcla de vapor de agua y aceite. La mezcla condensada fluye del condensador a un separador, donde el aceite y los compuestos bioactivos se separan automáticamente del agua. Este proceso puede generar grandes volúmenes de licores madre que representa un valor adicional por sus compuestos fenólicos solubles en agua. Dentro de las desventajas de este método es que a una temperatura de extracción alta (más de 100 °C) se pueden perder algunos compuestos volátiles por lo que limita su uso para la extracción de compuestos termolábiles. Además, se requiere cantidades grandes de energía porque su proceso de extracción es largo (más de dos horas).

Extracción con solventes

La extracción con solventes es un método convencional muy utilizado para materiales frágiles que no son tolerantes al calor de la destilación al vapor. Este método implica mezclar el material vegetal con disolventes típicos como acetona, hexano, etanol, metanol y éter de petróleo con un calentamiento suave. Posteriormente, se filtra el extracto y se evaporan los disolventes. Sin embargo, este método es un proceso relativamente lento, lo que hace que los aceites sean más caros que otros métodos.

Extracción con fluidos supercríticos

La extracción con fluidos supercríticos es una técnica ampliamente utilizada para extraer y aislar aceites esenciales de plantas aromáticas. Es una técnica similar a la extracción convencional, pero su diferencia radica en

usar como agente extractor un fluido supercrítico en lugar de un líquido. Un fluido supercrítico puede ser cualquier sustancia a temperatura y presión por arriba de su punto crítico termodinámico. Tiene la capacidad de difundirse a través de los sólidos como un gas y de disolver materiales como un líquido. El poder solvente de los fluidos supercríticos se encuentra en función de la densidad que puede variar por aumentos graduales ya sea en la presión o en la temperatura. Estas propiedades lo hacen conveniente como un sustituto de los solventes orgánicos en los procesos de extracción. El fluido supercrítico más común utilizado es el dióxido de carbono (CO_2) debido a su temperatura crítica relativamente baja (alrededor de $30\text{ }^\circ\text{C}$), su baja toxicidad, no es costoso, no deja residuos y alta disponibilidad. Este método implica brevemente que el CO_2 se convierte en líquido bajo condiciones de alta presión y calentamiento, luego extrae los compuestos volátiles de los materiales vegetales y, finalmente, regresa a gas y se evapora a presión y temperatura atmosférica normales sin residuos de solventes. Las ventajas de este método son la rapidez, el uso de temperaturas moderadas (menores a $65\text{ }^\circ\text{C}$) que no alteran las propiedades químicas de los compuestos obtenidos, el uso de disolventes orgánicos no nocivos (etanol, metanol, agua), y la obtención de un aceite esencial de alta calidad (buen porcentaje de extracción y gran contenido de compuestos bioactivos).

Extracción por microondas sin disolventes

La extracción asistida por microondas sin solventes es una técnica relativamente nueva que lleva a cabo una extracción más rápida, con menor consumo de energía y solventes y por lo tanto menor costo, es amigable con el medio ambiente y produce aceites esenciales de alto rendimiento y calidad. Este método consiste en calentar el material vegetal utilizando un equipo de microondas y luego una destilación convencional o seca realizada a presión atmosférica sin solventes ni agua. Las microondas operan selectivamente sobre las células de la planta, vaporizando la matriz de agua, causando que los tejidos se hinchen, y se rompan las glándulas y los receptáculos oleíferos. Tras este proceso se libera el aceite esencial, que se evapora por la destilación azeotrópica con el agua presente en el material vegetal y se recupera por condensación. Algunas de las principales condiciones de operación para este método son: tiempos de extracción entre 10 a 60 min, masa de la muestra 260-500 g, potencia de

microondas de 200-800 W. Este proceso se ha aplicado a diversas plantas tanto frescas como secas para la obtención de aceites esenciales de cítricos, laurel, romero, mena, tomillo, albahaca, entre otros.

Otros

Otros métodos alternativos han ganado interés en los últimos años en la obtención de aceites esenciales. Por ejemplo, el campo eléctrico pulsado, que induce la electroporación de las membranas celulares mejorando la difusión de solutos, mejora la tasa de extracción, los rendimientos y reduce el tiempo de extracción. Además, las tecnologías de ultrasonido y óhmicos se utilizan para ayudar a los métodos convencionales a ofrecer varias ventajas, como un mejor control del proceso, un tiempo de extracción más corto, mayores rendimientos y mayor calidad del aceite esencial. La extracción por ultrasonido consiste en la generación de burbujas de cavitación que revientan en la superficie del tejido celular vegetal para destruir las glándulas sebáceas mejorando la transferencia de masa entre la célula y el solvente para liberar el aceite esencial. El principio del calentamiento óhmico es simplemente convertir la energía eléctrica en energía térmica dentro de los materiales alimentarios debido a la resistividad intrínseca de los materiales para producir calor. La tecnología óhmica produce un calentamiento rápido y uniforme, lo que la convierte en una alternativa eficiente para diferentes aplicaciones.

Propiedades Bioactivas de Aceites Esenciales con Potencial Nutraceutico

Numerosas investigaciones demuestran que los aceites esenciales de distintas plantas aromáticas y medicinales presentan propiedades que pueden ser utilizadas para la formulación de nutraceuticos como antimicrobianas, antioxidantes, antimutagénicas, anticancerígenas, antiinflamatoria, inmunomoduladores, entre otras.

Antioxidante

Los radicales libres se producen naturalmente como parte de las reacciones biológicas en el organismo. Son moléculas que tienen un electrón desapareado en su orbital más externo lo que las hace sumamente reactivas. Los radicales libres son necesarios para realizar algunas funciones; sin embargo, cuando existe una cantidad excesiva de radicales libres y por largo tiempo pueden causar efectos negativos dañando componentes celulares como proteínas, membranas lipídicas y ácidos nucleicos. Algunas situaciones pueden incrementar la generación de radicales libres como la radiación UV, el tabaquismo, la contaminación, el estrés, una alimentación poco saludable, entre otros. El organismo contiene un completo sistema de protección antioxidante para contrarrestar su acción nociva como enzimas super óxido dismutasa, catalasa, y glutatión peroxidasa. Cuando hay un exceso de radicales ocurre un desequilibrio entre éstos y el sistema antioxidante causando lo que se conoce como estrés oxidativo.

El estrés oxidativo crónico se ha relacionado con muchas enfermedades, como la inflamación crónica, los trastornos cardiovasculares, las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson, el cáncer, la diabetes, las enfermedades pulmonares y el envejecimiento prematuro. Varios estudios han demostrado que el consumo de moléculas antioxidantes en la dieta podría ayudar a reducir el daño oxidativo y prevenir y tratar este tipo de enfermedades. Los antioxidantes son compuestos estables que pueden donar un electrón a los radicales libres y neutralizarlos, limitando o retrasando la capacidad de causar daño.

Los aceites esenciales y sus componentes principales poseen fuertes propiedades antioxidantes similares al ácido ascórbico, la vitamina E y el butilhidroxil-tolueno (BHT), un antioxidante comercial. La capacidad antioxidante de los aceites esenciales y su potencial para minimizar el daño oxidativo está bien documentada en estudios *in vitro* e *in vivo*. La actividad antioxidante de los aceites esenciales es una propiedad de gran interés porque permite eliminar radicales libres desempeñando un papel importante en la prevención de algunas enfermedades como cáncer, enfermedades cardíacas, deterioro del sistema inmunológico, envejecimiento prematuro, y procesos inflamatorios.

La actividad antioxidante de los aceites esenciales ha sido atribuida a la estructura y variación de los compuestos presentes en ellos. Algunos estudios indican que el componente mayoritario es el que contribuye en mayor proporción con el efecto antioxidante, como en el eugenol en el aceite de clavo, carvacrol en

el de orégano, timol en el de tomillo, entre otros. Mientras que otros estudios reportan que existe un efecto sinérgico entre todos los compuestos presentes en ellos. La estructura de los compuestos en los aceites esenciales juega un papel importante en el mecanismo antioxidante. El mayor potencial antioxidante se correlaciona con la proporción de compuestos que contienen anillo fenólico con un grupo hidroxilo (OH). También algunos autores informan que la presencia de grupos metoxi adicionales aumenta considerable la actividad antioxidante.

Por ejemplo, el modo de acción antioxidante del carvacrol, componente mayoritario del aceite de orégano, está basado en su estructura y está relacionado con la donación de átomos de hidrógeno a electrones desapareados, convirtiéndose en un radical que se estabiliza por su estructura de resonancia (figura 4.3). El anillo de benceno tiene un sustituyente hidroxilo en C5 (posición meta), y dado que el enlace entre el oxígeno y el benceno es muy estable, el grupo hidroxilo se puede desprotonar fácilmente. En los monofenoles, la capacidad de ceder H⁺ se asocia con la reducción de radicales libres, la estabilización de oxígeno singlete y la acción quelante de los metales de transición. La actividad antioxidante de los aceites esenciales se ha estudiado a través de diversos métodos como de eliminación de radicales libres, como ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y la capacidad de reducir el hierro (FRAP).

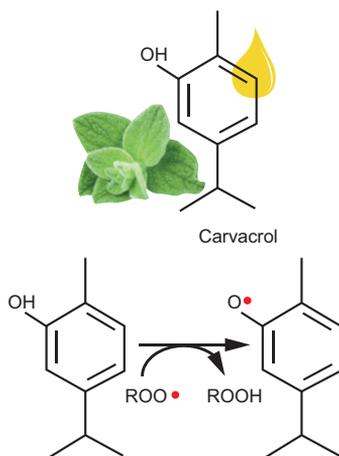


Figura 4.3. Mecanismo antioxidante por transferencia de átomos de hidrógeno del carvacrol, compuesto mayoritario del aceite esencial de orégano y un potente antioxidante.

Numerosos estudios han demostrado la actividad antioxidante de los aceites esenciales de una gran variedad de plantas tanto en ensayos *in vitro* como en ensayos en modelos murinos. Aquí solo mostraremos algunas investigaciones realizadas en los últimos años. El aceite esencial de *Citrus lumia* Risso, una planta cultivada en Italia, presenta un fuerte potencial antioxidante y de eliminación de radicales libres, particularmente en ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (blanqueo de β -caroteno y ORAC, IC_{50} 22 $\mu\text{g/mL}$ y 46 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente), que pueden atribuirse al alto contenido de monoterpenos, especialmente D-limoneno (48.905%), y linalool (18.245%). Debido a estas propiedades, el aceite esencial de *C. lumia* puede tener un papel preventivo en la aparición de patologías relacionadas con el estrés oxidativo.

Se evaluó la efectividad del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* frente a las alteraciones inducidas por el dicromato de potasio en el riñón de ratas macho. La administración oral de este aceite esencial antes o después del tratamiento con dicromato de potasio restauró significativamente la mayoría de los parámetros bioquímicos afectados, además de mejorar la arquitectura del tejido renal y mejorar los marcadores de estrés oxidativo. Por otro lado, los principales compuestos encontrados en los aceites esenciales de clavo, tomillo, orégano y naranja dulce fueron eugenol, timol, 4-terpineol y D-limoneno, respectivamente. El aceite esencial de clavo mostró un mayor porcentaje de inhibición de radicales hidroxilo y óxido nítrico, mientras que el aceite esencial de tomillo mostró una mayor actividad antioxidante frente al radical DPPH en comparación con los otros aceites evaluados. Estos resultados demuestran el potencial uso de estos aceites esenciales para prevenir y/o tratar enfermedades derivadas del estrés oxidativo.

Dentro de los componentes de los aceites esenciales con mayor potencial antioxidante como ya se ha mencionado es el carvacrol. Se ha informado que el carvacrol tiene mayor capacidad antioxidante que el ácido ascórbico y el antioxidante sintético BHT evaluado a través del método DPPH. Además, el carvacrol ha demostrado un efecto protector sobre el daño por estrés oxidativo inducido por estrés crónico en el cerebro, hígado y riñones de ratas al aumentar la actividad de las enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa) y reducir el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el superóxido y los niveles de óxido nítrico.

Por otro lado, tres especies de mentas, *Mentha piperita* (menta), *Mentha spicata* (hierbabuena nativa) y *Mentha gracilis* (menta verde escocesa) demostraron una importante actividad de eliminación de radicales y reducción de Fe^{3+} en ensayos químicos, DPPH y TEAC (capacidad antioxidante equivalente a Trolox) y una mayor eficacia en el ensayo de poder reductor. Además, los tres aceites mostraron una actividad equivalente en la mitigación de la peroxidación lipídica inducida por productos químicos en tejidos hepáticos. La adición de 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de los aceites esenciales de menta verde aumentó las concentraciones de glutatión en las células de epitelio intestinal porcino IPEC-J2 tratadas con H_2O_2 , lo que sugiere una defensa antioxidante endógena mejorada. Así mismo, la suplementación de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de aceite esencial de menta o menta verde escocesa aumentó significativamente la tasa de supervivencia de *Caenorhabditis elegans* en respuesta al estrés oxidativo inducido por H_2O_2 . Este efecto fue comparable al de la suplementación de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de ácido ascórbico, otro potente antioxidante.

Debido a que los aceites esenciales son volátiles e hidrofóbicos sus aplicaciones pueden llegar a ser limitadas. En los últimos años se han buscado estrategias como la encapsulación o formación de películas con el aceite esencial para incrementar y proteger la actividad antioxidante. En este sentido, las nanopartículas de quitosano incorporadas con el aceite esencial de clavo mostraron mayor actividad antioxidante que el aceite libre. Por otro lado, la incorporación de aceite de corteza de canela en películas de quitosano incrementó la actividad antioxidante de 6.0 a 14.5 veces y la capacidad protectora frente a la hemólisis eritrocitaria aumentó hasta en un 80% en comparación con las películas de quitosano sin aceite. Por lo que con todos estos estudios se confirma la importancia de los aceites esenciales como antioxidantes, que pudieran ser aplicados como nutraceuticos.

Antimicrobiano

Las infecciones microbianas son cada vez más difíciles de tratar debido al aumento alarmante de la resistencia a múltiples antibióticos, siendo considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las mayores amenazas para la salud, la seguridad alimentaria y el desarrollo a nivel mundial. La resistencia a antibióticos es un proceso natural; sin embargo, el mal uso de éstos en humanos y animales ha acelerado el proceso. Esto hace que

los antibióticos sean menos efectivos y prolonga las estadías en el hospital, aumenta los costos y las tasas de mortalidad. Por lo tanto, existe una urgencia en la búsqueda de agentes antimicrobianos novedosos y efectivos como alternativa a los antibióticos. La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y sus principales componentes es bien sabida desde la antigüedad ya que han servido con fines farmacéuticos en el tratamiento de diversas infecciones bacterianas y fúngicas.

Numerosos estudios han demostrado el potencial de los aceites esenciales contra un amplio rango de bacterias Gram negativas y Gram positivas. En la tabla 4.3 se muestran algunos estudios señalando el potencial antibacteriano que presentan algunos aceites esenciales. Los aceites esenciales con mayor actividad antibacteriana son orégano (*Origanum vulgare*), clavo (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum cassia*), tomillo (*Thymus vulgaris*), menta (*Mentha*), romero (*Salvia rosmarinus*), y salvia (*Salvia officinalis*) por mencionar algunos. En un estudio se reportó que el aceite esencial de orégano (1.25-5.00 µg/mL) tiene actividad antibacteriana contra diferentes cepas de *Streptococcus pneumoniae*, una de las bacterias más importantes causantes de infecciones respiratorias, incluyendo sinusitis, otitis media, neumonía e infecciones invasivas como septicemia y meningitis. Carvacrol, el componente mayoritario de aceite esencial de orégano, presenta una actividad antibacteriana fuerte contra un amplio rango de bacterias patógenas causantes de enfermedades gastrointestinales, urinarias y respiratorias como *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli* uropatógena, y *Clostridium difficile*.

Generalmente, el mecanismo antibacteriano de los aceites esenciales está relacionado con su hidrofobicidad y la estructura de sus componentes. La naturaleza lipófila de los aceites esenciales les permite atravesar la pared celular y dañar la membrana citoplásmica al mismo tiempo que altera varias capas de polisacáridos, ácidos grasos y fosfolípidos y eventualmente los vuelve permeables. También pueden unirse a las proteínas para evitar que realicen sus funciones normales como transporte de moléculas y iones. Los componentes hidrofóbicos presentes en el aceite esencial podrían cambiar la permeabilidad de la membrana celular microbiana para cationes como H⁺ y K⁺, los cuales modifican el flujo de protones, modificando el pH celular y afectando la composición química de las células y su actividad. La pérdida de permeabilidad diferencial da como resultado un desequilibrio en la presión osmótica intracelular, que posteriormente altera los orgánulos intracelulares, conduce a la liberación del contenido

citoplasmático, afecta la fuerza motriz de los protones y el agotamiento de la reserva de ATP, desnaturaliza varias enzimas y proteínas, causando finalmente la muerte celular. La figura 4.4 muestra una representación del modo de acción antibacteriano de los aceites esenciales y sus componentes.

Además, se ha propuesto que los aceites esenciales y sus componentes son efectivos para interferir con algunos factores de virulencia como motilidad, formación de biopelículas y el sistema de comunicación intercelular conocido en inglés como *Quorum sensing*. Se han descrito las propiedades antibacterianas del aceite esencial de canela y sus componentes mayoritarios, resaltando la inhibición del crecimiento celular al dañar la membrana celular; alteración del perfil lipídico, inhibición de ATPasas, afectación de la división celular, porinas de membrana, motilidad, formación de biopelículas y el *Quorum sensing*.

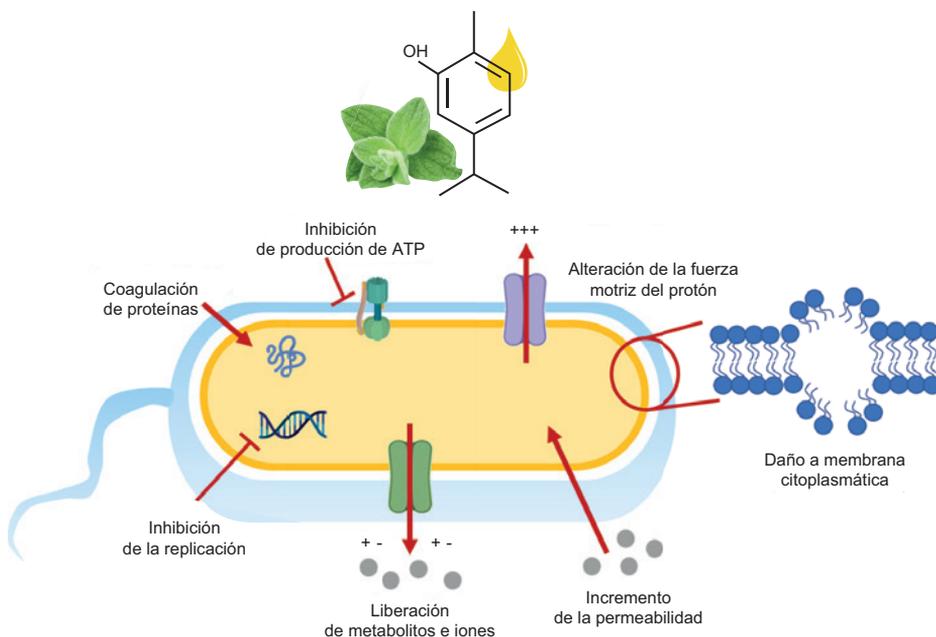


Figura 4.4. Mecanismos antibacterianos propuestos para los aceites esenciales.

Tabla 4.3. Efecto de la aplicación de aceites esenciales contra diversas bacterias

Aceite esencial	Microorganismos	Referencia
Orégano	<i>Staphylococcus aureus</i> metil resistente	(Cui <i>et al.</i> , 2019; Luo <i>et al.</i> , 2022; Mith <i>et al.</i> , 2014; Wijesundara & Rupasinghe, 2018)
	<i>Vibrio vulnificus</i>	
	<i>Salmonella</i> entérica	
	<i>Erwinia rhapontici</i>	
	<i>Xanthomonas campestris</i>	
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
Hierba de limón	<i>Bacillus thermosphacta</i>	
	<i>Escherichia coli</i>	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Acitenobacter baumannii</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Clavo	<i>Salmonella</i> Typhimurium	(Nirmala, Durai, Gopakumar, & Nagarajan, 2019; Silva-Espinoza <i>et al.</i> , 2020)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Albahaca	<i>Bacillus cereus</i>	(Baldim <i>et al.</i> , 2018; Stanojevic <i>et al.</i> , 2017)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Canela	<i>Escherichia coli</i>	(El Atki <i>et al.</i> , 2019; Firmino <i>et al.</i> , 2018; Kaskatepe <i>et al.</i> , 2016; Mith <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	<i>Acitenobacter baumannii</i>	
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
<i>Bacillus thermosphacta</i> <i>Escherichia coli</i>		
Tomillo	<i>Listeria monocytogenes</i>	(Abdollahzadeh, Rezaei, & Hosseini, 2014; Alsaraf <i>et al.</i> , 2020; Mith <i>et al.</i> , 2014)
	<i>Escherichia coli</i>	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
Romero	<i>Bacillus thermosphacta</i> <i>Escherichia coli</i>	
	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Escherichia coli</i>	
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	

También se ha reportado el efecto antifúngico de varios aceites esenciales contra diversos hongos (tabla 4.4). En la actualidad, las investigaciones relacionadas con el modo de acción de los aceites esenciales sobre las esporas de hongos y las células de micelio son más escasas en comparación con los estudios basados en bacterias, sin embargo, el mecanismo propuesto es similar. Dentro de los mecanismos antifúngicos se describen disrupción de la membrana y pared celular a través de la inhibición de la síntesis de ergosterol y β -glucanos. Otros mecanismos son inhibición de bombas de eflujo, alteración de la morfología celular, alteración de la mitocondria a través de la inhibición de las bombas de protones, causando una reducción en la producción de ATP y consiguiente muerte celular, y reducción en la formación de biopelículas y factores de virulencia de algunos hongos.

Tabla 4.4. Efecto de la aplicación de los aceites esenciales contra hongos

Aceite esencial	Microorganismo	Referencia
Hierba de limón	<i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus flavus</i>	(Alharaty & Ramaswamy, 2020; Helal, Sarhan, Abu Shahla, & Abou El-Khair, 2007)
Oregano	<i>Trichophyton rubrum</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium verticillioides</i>	(Aguilar-Pérez, Medina, Narayanan, Parra-Saldívar, & Iqbal, 2021; Roselló, Sempere, Sanz-Berzosa, Chiralt, & Santamarina, 2015)
Tomillo	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>	(Moazeni <i>et al.</i> , 2021; Oliveira, Carvajal-Moreno, Correa, & Rojo-Callejas, 2020)
Albahaca	<i>Aspergillus flavus</i>	(Abou El-Soud, Deabes, Abou El-Kassem, & Khalil, 2015)
Clavo	<i>Aspergillus niger</i> <i>Fusarium moniliforme</i> <i>Helminthosporium oryzae</i> <i>Rhizoctonia solani</i>	(Hasheminejad, Khodaiyan, & Safari, 2019; Kaur <i>et al.</i> , 2019)

Aunque son pocas las investigaciones realizadas, algunos aceites esenciales han demostrado actividad frente a virus y en la tabla 4.5 se resumen algunos de estos estudios. Es importante resaltar que algunos compuestos presentes en los aceites esenciales están siendo tomados en cuenta para el tra-

tamiento y prevención de la enfermedad coronavirus 19 (COVID-19) causada por el virus SARS-CoV2 que tiene actualmente al mundo en una pandemia. Se sabe que el proceso infeccioso del SARS-CoV2 comienza por la interacción entre la proteína espiga en la superficie del virus y los receptores ACE2 de las células huésped humanas, lo que permite que el virus ingrese a la célula y se inicie la infección. En este sentido, el carvacrol se estudió mediante modelado molecular su potencial para interactuar con moléculas críticas del proceso infeccioso. Primero, este compuesto mostró el potencial de inhibir la actividad de ACE2, y los autores sugirieron que puede bloquear la entrada de SARS-CoV2 en la célula huésped. Por otro lado, se demostró mediante el acoplamiento molecular el potencial del carvacrol para inhibir la unión de la glicoproteína del pico viral (S) a la célula huésped. Además, se ha demostrado mediante modelado molecular que el carvacrol interactúa con Mpro, una enzima proteasa del genoma viral, lo que podría tener un efecto significativo en la replicación y maduración del SARS-CoV2.

La acción de los aceites esenciales puede interferir a nivel extracelular, es decir, en la penetración del virus a la célula huésped, interfiriendo con la estructura de la envoltura viral, o bloqueando proteínas virales que son necesarias para que el virus ingrese a las células huésped. Los aceites esenciales también pueden tener efectos antivirales contra los virus intracelulares. Además, un posible mecanismo es la inhibición de la replicación viral al afectar a enzimas responsables de este suceso. En general, los mecanismos aún no se comprenden completamente. No hay datos precisos sobre el mecanismo de acción molecular, incluidos los sitios específicos de acción y los tipos de interacciones. Es importante conocer estos mecanismos para poder utilizar el potencial de los aceites esenciales.

Tabla 4.5. Efecto de los aceites esenciales aplicados contra virus

Aceite esencial	Microorganismo	Referencia
Hierba de limón	Herpes simple 1 Norovirus murino	(Kim <i>et al.</i> , 2017; Minami <i>et al.</i> , 2003; Mukarram <i>et al.</i> , 2022)
Orégano	Herpes simple tipo 1	(Mediouni <i>et al.</i> , 2020; Reichling, Schnitzler, Suschke, & Saller, 2009)
Sabia	Herpes simple tipo 1	(Reichling <i>et al.</i> , 2009)
Tomillo	Influenza	(Vimalanathan & Hudson, 2014)

Aceite esencial	Microorganismo	Referencia
Canela	Influenza	(Vimalanathan & Hudson, 2014)
Eucalipto	Influenza	(Pyankov, Usachev, Pyankova, & Agranovski, 2012)
Árbol de té	Influenza	(Pyankov <i>et al.</i> , 2012)

Anticancerígeno

El cáncer es un problema de salud pública mundial, que implica el crecimiento descontrolado de células. Las células pierden su interacción entre sí, invaden los tejidos vecinos y finalmente se propagan a tejidos distantes del cuerpo. Es una de las principales causas de muerte alrededor del mundo. La Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (GLOBOCAN) estima que hubo 19.3 millones de nuevos cáncer y 10 millones de muertes por cáncer en todo el mundo en 2020. Los cánceres más comúnmente diagnosticados fueron el cáncer de mama en mujeres, pulmón y próstata, mientras que las causas de muerte fueron por cáncer en pulmón, hígado y estómago. La terapia tradicional para tratar el cáncer no es del todo efectiva, ejerce fuertes efectos secundarios atribuidos a la acción no selectiva sobre las células (cancerosas y no cancerosas), muestra una mayor tasa de resistencia a múltiples fármacos y es muy costosa. Por lo tanto, actualmente se realizan muchas investigaciones para buscar nuevos compuestos anticancerígenos que puedan prevenir la mutación en las células, inhibir la proliferación de células cancerosas e inducir la apoptosis. En particular los aceites esenciales y sus componentes han mostrado ser potentes anticancerígenos en ensayos *in vitro*.

El citral, uno de los compuestos mayoritarios de aceite de la hierba de limón, tiene un potencial antiproliferativo contra varios tipos de líneas celulares como cáncer de próstata, cáncer de ovario, cáncer de cervix, y cáncer de mama pero sorprendentemente no es citotóxico para células epiteliales normales. Aunque diversos estudios han reportado la efectividad del aceite de hierba de limón como anticancerígeno, no se conoce exactamente su modo de acción. Los estudios indican que el citral tiene acción a través de la procaspasa 3 activada, la inducción de la apoptosis y la detención del ciclo celular en la fase G2/M, con esto causando la muerte de las células cancerígenas.

El aceite esencial de orégano ha ejercido actividad anticancerígena por mecanismos como actividades antioxidantes, antimutagénicas y antiproliferativas atribuidas principalmente al carvacrol, su componente principal. Se ha

informado que el carvacrol (0.5 y 1 $\mu\text{mol/placa}$) ejerce una fuerte antimutagenicidad mostrando una inhibición del mutágeno metanosulfonato de metilo en cepas de *S. Typhimurium* TA98 y TA1538. Los efectos observados estaban relacionados con una posible interacción con el mutágeno, impidiendo su entrada en la célula o induciendo enzimas desintoxicantes. Del mismo modo, se ha demostrado que el carvacrol podría actuar como un fuerte antimutágeno directo contra la nitro-O-fenilendiamina y el 2-aminofluoreno, lo que sugiere la importancia del carvacrol para la prevención del cáncer. Los mecanismos involucrados para proteger contra la mutación celular son la interacción con el mutágeno (mutágeno directo o indirecto), la inhibición de la actividad catalítica de las enzimas metabolizadoras de xenobióticos, la eliminación de metabolitos formados después de la bioactivación y la inducción de mecanismos de reparación del ADN. Sin embargo, los mecanismos exactos de los compuestos naturales no se conocen por completo.

Además del efecto antimutagénico, algunos estudios demuestran el efecto prometedor de carvacrol en la segunda etapa de la carcinogénesis, induciendo actividades antiproliferativas y apoptóticas contra células cancerígenas. El carvacrol ha presentado efecto contra líneas celulares de cáncer de colon HCT116 y LoVo, cáncer de cérvix, cáncer de pulmón A549 y H460, células de adenocarcinoma gástrico entre otras. Los mecanismos moleculares exactos implicados en la actividad anticancerígena del carvacrol no están completamente definidos. Los mecanismos anticancerígenos informados actualmente involucran interrupciones del potencial de la membrana mitocondrial, formación de especies reactivas de oxígeno, expresión y represión de proteínas específicas de la cascada apoptótica observada en diferentes líneas celulares de cáncer de diferentes órganos.

En la literatura hay pocos estudios que indican el efecto antiproliferativo *in vivo* de aceites esenciales. Por ejemplo, se ha investigado el efecto del carvacrol sobre el cáncer de hígado inducido por dietilnitrosamina en ratas albinas Wistar macho. Este estudio confirma el uso potencial del carvacrol como quimiopreventivo durante la progresión del cáncer de hígado. Además, los resultados revelaron que la suplementación con carvacrol (15 mg/kg de peso corporal) atenuó la aparición de focos y nódulos hepáticos y mostró actividades antioxidantes y de captación de radicales libres para modular los niveles de peroxidación lipídica y aumentar los mecanismos antioxidantes endógenos en la carcinogénesis hepatocelular inducida. De manera similar, el

aceite esencial de orégano mostró efecto antiproliferativo contra la línea celular de cáncer colorectal y su administración oral profiláctica en un modelo de ratón experimental BALB/c inhibiendo el crecimiento de tumores de colon. La administración de carvacrol a 100 mg/kg/día por peso corporal disminuyó el volumen de tumores de cáncer de mama en ratas.

Otros aceites esenciales también han demostrado actividad anticancerígena. Por ejemplo, las emulsiones basadas en nanoescala con aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) tuvieron un efecto apoptótico y de reducción en la proliferación de líneas celulares de cáncer de tiroides lo que lo hacen un candidato prometedor como medicamento alternativo contra el cáncer. Otro estudio reportó la actividad citotóxica de los aceites esenciales de clavo, citronela (*Cymbopogon nardus*), romero (*Rosmarinus officinalis*) y neem (*Azadirachta indica*) contra líneas celulares humanas MCF-7 (Carcinoma ductal de mama invasivo), K-562 (explosión de linfa), HeLa (cáncer de cuello uterino). De manera similar, el aceite esencial de romero produce citotoxicidad dependiente de la dosis contra células de adenocarcinoma de mama humano MDA-MB-231 con valor IC_{50} de 59.35 $\mu\text{g/mL}$. Se ha demostrado que el romero produce su acción anticancerígena al detener la activación de carcinógenos, aumentar las actividades de las enzimas antioxidantes, reducir la inflamación que estimula los tumores, disminuir el crecimiento celular, estimular la muerte celular programada y suprimir la angiogénesis e invasión tumoral. Sin embargo, todavía son necesarios numerosos estudios previos para poder utilizar el romero y sus derivados en la práctica clínica, ya que todavía falta estandarizar el proceso de extracción y las concentraciones, ya que son muy variadas entre los estudios reportados. En la tabla 4.6, se muestran más estudios que sustentan la efectividad anticancerígena de los aceites esenciales.

Tabla 4.6. Potencial anticancerígeno de aceites esenciales

Aceite esencial	Nombre científico	Línea celular cancerígena	Referencia
Lavanda	<i>Lavandula angustifolia</i>	Próstata (PC-3 and DU145)	(Zhao <i>et al.</i> , 2017)
Melissa	<i>Melissa officinalis</i>	Pulmón (A549) Mama (MCF-7) Colon (Caco-2), Leucemia (HL-60 and K562) Melanoma de ratón (B16F10)	(De Sousa <i>et al.</i> , 2004)
Menta	<i>Mentha piperita</i>	Cervix (HeLa) Laringe (Hep2) Pulmón (A549) Mama (MCF-7) Prostata (LNCaP)	(Hussain, Anwar, Nigam, Ashraf, & Gilani, 2010; Nikolić, Jovanović, <i>et al.</i> , 2014; Rahimifard <i>et al.</i> , 2010)
Albahaca	<i>Ocimum basilicum</i>	Carcinoma de ascitis (Ehrlich) Cervix (HeLa) Epitelio de laringe (Hep-2)	(Kathirvel & Ravi, 2012; Taie & RADWAN, 2010)
Salvia	<i>Salvia officinalis</i>	Cervix (HeLa) Pulmón (A549) Leucemia (HL-60 and K562) Mama (MCF-7) Ovario (A2780) Melanoma (A375, M14 and A2058)	(Foray <i>et al.</i> , 1999; Russo <i>et al.</i> , 2013)
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Célula escamosa de la cavidad oral (UM-SCC1) Mama (MCF-7) Pulmón (NCI-H460, A549) Colon (HCT-15) Cervix (HeLa) Hepatocelular (HepG2) Próstata (PC-3)	(Nikolić, Glamočlija, <i>et al.</i> , 2014; Sertel, Eichhorn, Plinkert, & Efferth, 2011; Zu <i>et al.</i> , 2010)

Antiinflamatorio

El proceso inflamatorio forma parte esencial de la respuesta inmune como mecanismo de defensa ante la infección por microorganismos patógenos o exposición a agentes químicos nocivos para el organismo. En respuesta, el cuerpo

altera las funciones vasculares y celulares, enviando químicos de defensa a la inflamación. Cuando el proceso inflamatorio persiste, puede causar daño tisular causado por células tisulares ofensivas (como macrófagos y linfocitos) y presentar síntomas potencialmente dañinos para el organismo, como el desarrollo de químicos letales, tanto para el agresor inflamatorio como para el propio cuerpo humano. La inflamación aguda se caracteriza por una duración relativamente corta (horas a días) e involucra el mecanismo descrito anteriormente. La inflamación crónica se refiere a una respuesta más prolongada (meses a años) e incluye algunas enfermedades humanas como la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn, la tuberculosis y la enfermedad pulmonar crónica. Las enfermedades neurodegenerativas graves como el Alzheimer o el Parkinson pueden empeorar por la secreción desregulada de mediadores inflamatorios.

El uso de terapias alternativas basadas en compuestos naturales es un tratamiento prometedor para aliviar las complicaciones provocadas por el proceso inflamatorio de muchas enfermedades. Compuestos de origen natural como los aceites esenciales han demostrado una actividad antiinflamatoria debido a su capacidad para suprimir la expresión de la ciclooxigenasa (COX)-2, inhibir la producción y acciones del óxido nítrico (NO) e inhibir la cascada de señalización que provoca la síntesis y liberación de citocinas proinflamatorias en los tejidos afectados.

Como se ha mencionado anteriormente, el carvacrol presente en aceites esenciales de orégano y satureja es un compuesto altamente bioactivo. Diversos estudios han demostrado su efectividad como antiinflamatorio. Se ha informado el efecto antiinflamatorio del carvacrol al inhibir la COX-2, enzima esencial responsable de transformar el ácido araquidónico en prostaglandinas y leucotrienos involucrados en el proceso inflamatorio. Además, este terpenoide disminuyó la concentración de prostaglandina E2 (PGE2) y los niveles de interleucina IL-8 proinflamatoria, que participan en el sistema inmunológico mediante la activación de neutrófilos, incremento de proteínas de adhesión en las células endoteliales y metabolismo oxidativo por polimorfonucleares neutrófilos.

La suplementación con carvacrol (0.2 mg/kg/día durante dos meses) en pacientes con lesiones pulmonares provocó una disminución de las citocinas proinflamatorias IL-2, IL-4, IL-10, IL-8, IL-6 y TNF- α y un aumento de los niveles de citocinas antiinflamatorias IL-10 e interferón-gamma (IFN γ). Estos resultados sugirieron el uso potencial de carvacrol para reducir los casos

graves de síndrome de dificultad respiratoria aguda y el desarrollo de lesiones pulmonares agudas. Otro estudio ha reportado que la administración de carvacrol en ratas inducidas por asma bronquial redujo los niveles de interleucinas como IL-13, IL-5, IL-4, IgE, TNF- α , entre otros mediadores proinflamatorios. El mecanismo de acción sugerido muestra que el carvacrol es un potente supresor de eosinófilos, que son la principal fuente de IL-5. Esto, junto con una regulación en el equilibrio de las citocinas Th1 y Th2, demuestra el potencial del carvacrol como tratamiento antiasmático al limitar la cascada de citocinas inflamatorias y moléculas de adhesión celular.

Varios estudios *in vitro* informaron que el aceite esencial de romero presenta propiedades antiinflamatorias, mediante la inhibición significativa de la enzima ciclooxigenasa COX-2 y la inhibición de la producción de NO. Otro estudio demostró la inhibición significativa de citocinas proinflamatorias (IL-1 β y TNF- α). No existe mucha evidencia disponible acerca del efecto de aceites esenciales antiinflamatorios en estudios *in vivo*. Se ha mostrado que la aplicación tópica de extractos de romero provocó una reducción del edema, sin embargo, este efecto no puede ser extrapolado al consumo humano. La actividad antiinflamatoria de extractos acuosos de romero administrados por vía oral (100, 200 o 400 mg/kg) se estudió en ratas Wistar machos a las cuales se les causó inflamación inducida por carragenina en el tejido subcutáneo. Los resultados mostraron que el extracto de romero causó una reducción dependiente de la dosis en la migración de neutrófilos, así como una disminución de los niveles de superóxido dismutasa, sustancia reactiva al ácido tiobarbitúrico, leucotrieno B4, prostaglandina E2, IL-6 y TNF- α en el exudado inflamado al bloquear las vías de los neutrófilos, migración y secreción.

Por otro lado, el aceite de clavo también presenta actividad antiinflamatoria. Este aceite inhibe la producción de varios biomarcadores proinflamatorios como la molécula de adhesión de células vasculares-1 (VCAM-1), la proteína 10 inducida por interferón c (IP-10), quimioatrayente de células T inducible por interferón (I-TAC), y monocina inducida por interferón c (MIG). Además, el aceite de clavo modula significativamente la expresión génica global y altera las vías de señalización críticas para la inflamación, remodelación de tejidos y procesos de señalización del cáncer. En el mismo acercamiento, se reportó el efecto antiinflamatorio del eugenol, compuesto mayoritario del aceite de clavo, con propósitos para ser utilizado por dentistas. En este estudio se observó que el eugenol a una dosis de 200 mg/kg inhibió significativamente

el edema inducido por carragenina y en dosis de 50, 75 y 100 mg/kg tuvo un efecto antinociceptivo, que es la reversión o alteración de los aspectos sensoriales de la intensidad del dolor.

Otros aceites esenciales han demostrado actividades antiinflamatorias similares como el aceite esencial de hierbabuena, mejorana y hierba de limón.

Otras actividades

Los aceites esenciales tienen numerosas propiedades bioactivas además de las descritas anteriormente como propiedad antidiabética y antihiperlipidemia; aunque su estudio todavía es limitado. Hoy en día, la diabetes es una de las enfermedades crónicas más comunes y graves que afectan la salud humana. La diabetes ocurre cuando las células y los tejidos no pueden usar la glucosa en sangre debido al metabolismo anormal de la insulina, lo que resulta en hiperglucemia y diversas consecuencias metabólicas y funcionales. La prevalencia de la diabetes ha aumentado significativamente en las últimas décadas, lo que la convierte en un importante desafío para la salud pública.

Los compuestos bioactivos de los aceites esenciales han demostrado una actividad antidiabética crucial. En este sentido, los aceites esenciales de clavo, tomillo, orégano y naranja dulce fueron evaluados por su actividad antihiper-glucémica, además de su potencial antioxidante. En ensayos de inhibición de enzimas digestivas relacionadas con el desarrollo de hiperglucemia, el aceite esencial de tomillo mostró la mayor capacidad para inhibir la α -amilasa, mientras que el aceite esencial de naranja dulce mostró la inhibición más potente de la α -glucosidasa. Estos resultados demuestran el potencial del uso de estos aceites esenciales para prevenir y/o tratar enfermedades derivadas del estrés oxidativo, como la diabetes mellitus. Del mismo modo, el estudio *in vitro* del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* reveló que produce una inhibición dependiente de la dosis de las enzimas α -glucosidasa que es comparable al fármaco estándar acarbosa.

Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo y han sido reconocidas como un contribuyente esencial al costo de la atención médica. Estas enfermedades están relacionadas con insuficiencia cardíaca, hipertensión, agregación plaquetaria, problemas cardíacos y colesterol de baja densidad y triglicéridos elevados. De ahí que diversas investigaciones científicas hayan buscado nuevos agentes terapéuti-

cos para prevenir y tratar las enfermedades cardiovasculares. Existen pocos estudios en la literatura que demuestren el potencial de aceites esenciales en la protección contra enfermedades cardiovasculares. Por ejemplo, el aceite esencial de *Thymus daenensis* redujo el nivel de colesterol y triglicéridos en ratas machos Wistar con hipercolesterolemia. El tratamiento con hierba de limón (100 y 200 mg/kg por peso corporal) mostró una inhibición significativa contra la hiperlipidemia causada por dexametasona en ratas macho al mantener los niveles séricos de colesterol, triglicéridos e índice aterogénico cerca de los niveles normales y el efecto antihiperlipidémico del aceite de limoncillo fue comparable con la atorvastatina 10 mg/kg por peso corporal. El posible mecanismo puede estar asociado con la disminución de la actividad de la lecitina colesterol acetil transferasa, una enzima relacionada al metabolismo de lípidos. Por otro lado, se estudió el efecto del extracto y aceite esencial de albahaca en el perfil de lípidos séricos en ratas alimentadas con una dieta alta en colesterol. Tanto el extracto como el aceite redujeron los triglicéridos séricos y hepáticos y el colesterol total y hepático.

Protocolos

Protocolo para la extracción de aceite esencial de orégano y la evaluación de su actividad antimicrobiana contra la bacteria patógena *Staphylococcus aureus*

Este protocolo indica los materiales, reactivos y el procedimiento que se desarrollará para la obtención de aceites esenciales y para la determinación de la concentración mínima inhibitoria y mínima bactericida del aceite esencial contra bacterias patógenas. Como ejemplo, se describe el proceso para la obtención de aceite esencial de orégano contra *Staphylococcus aureus*.

Material biológico

- 50 g de hojas secas de orégano
- *Staphylococcus aureus*

Material de laboratorio:

- Matraz matraz bola de 500 mL
- Matraz Erlenmeyer de 500 mL (con tapón monohoradado)
- Matraz de recolección de 100 mL
- Fuente de calor (mechero o parrilla de calentamiento)
- Refrigerante
- Mangueras
- Termómetro
- Embudo de separación
- Microplacas de 96 pocillos (estériles)
- Cajas Petri (estériles)
- Micropipetas 200 μ L y 1000 μ L (estériles)

Reactivos:

- Caldo Mueller Hinton
- Agar Mueller Hinton
- Agua destilada

Equipos:

- Lector de microplacas
- Autoclave

Procedimiento:

Extracción del aceite esencial mediante la técnica de destilación por arrastre con vapor

1. Se prepara y se monta todo el equipo de destilación como lo muestra la figura 4.2.
2. En un matraz Erlenmeyer de 500 mL se agregan 400 mL de agua destilada. Se tapa el matraz con un tapón de un orificio donde se coloca un tubo de vidrio que desemboca debajo o lo más cerca de la muestra de orégano. Este tubo llevará el vapor generado en el matraz.

3. Se colocan 50 g de hojas secas de orégano cortadas en trozos pequeños (2 cm) en el matraz bola con 10 mL de agua destilada.
4. Se prende la fuente de calor para permitir que el agua en el primer matraz llegué a ebullición y que el vapor generado arrastre los compuestos volátiles del orégano y se condensen por el refrigerante.
5. Transcurrido un determinado tiempo, se recolecta la muestra que cae por el refrigerante en un matraz.
6. Se separa la parte acuosa del aceite obtenido con un embudo de separación por diferencia de densidades. Se pesa el aceite obtenido para determinar el rendimiento de aceite en relación a la muestra inicial utilizada de acuerdo a la siguiente ecuación:
7. Se almacena el aceite en un frasco ámbar a 4 °C hasta su uso.

Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial frente *S. aureus*

1. Para la preparación del inóculo, se toma una asada de un stock de *S. aureus*, se inocula en caldo Mueller Hinton (20 µL) y se incuba por 19 h a 37 °C.
2. Se ajusta el inóculo bacteriano a una absorbancia de 0.1 a 600 nm o a una turbidez equivalente a 0.5 estándar McFarland (1×10^8 UFC/mL).
3. Se preparan diferentes concentraciones del aceite esencial de orégano disuelto en caldo Mueller Hinton (rango: 10 – 1000 mg/mL).
4. Se emplea la técnica de microdilución en caldo para la determinación de la CMI, para esto se transfieren 5 µL del inóculo ajustado a un pocillo de una microplaca.
5. Se agregan 295 µL de las diferentes concentraciones del aceite esencial de orégano.
6. Como control negativo se colocan 5 µL del inóculo más 295 µL de caldo Mueller Hinton (sin aceite esencial) en un pocillo.
7. Como control positivo se agrega 5 µL del inóculo más 295 µL de antibiótico diluido en caldo Mueller Hinton.
8. Cada determinación se realiza por triplicado.
9. Se incuba la microplaca por 24 h a 37 °C.
La concentración más baja del aceite esencial que evita visualmente el crecimiento de inóculo se toma como la CMI.

Determinación de la concentración mínima bactericida (CMB) del aceite esencial frente *S. aureus*

1. De la microplaca preparada en la determinación de la CMI, se toman 20 μ L del pozo con la CMI y tres concentraciones superiores y se siembran en agar Mueller Hinton.
2. Las placas inoculadas se incuban por 24 h a 37 °C.
La concentración más baja que evita completamente el crecimiento en el agar se toma como la CMB.

Resultados obtenidos

De este protocolo se pueden obtener los resultados mostrados en la siguiente tabla.

	Resultado
Porcentaje de rendimiento del aceite esencial	1.5%
CMI	200 mg//mL
CMB	400 mg//mL

Abreviaturas

ATP: adenosin trifosfato

ABTS: ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico

BHT: butil-hidroxil-tolueno

CMI: concentración mínima inhibitoria

CMB: concentración mínima bactericida

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

FRAP: capacidad reductora de hierro

TEAC: capacidad antioxidante equivalente a Trolox

UFC: unidades formadoras de colonias

Bibliografía

- Abdollahzadeh, E., Rezaei, M., & Hosseini, H. (2014). Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food control*, 35(1), 177-183.
- Abou El-Soud, N. H., Deabes, M., Abou El-Kassem, L., & Khalil, M. (2015). Chemical composition and antifungal activity of *Ocimum basilicum* L. essential oil. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 3(3), 374.
- Adukwu, E., Allen, S. C., & Phillips, C. A. (2012). The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology*, 113(5), 1217-1227.
- Aguilar-Pérez, K. M., Medina, D. I., Narayanan, J., Parra-Saldívar, R., & Iqbal, H. (2021). Synthesis and nano-sized characterization of bioactive oregano essential oil molecule-loaded small unilamellar nanoliposomes with antifungal potentialities. *Molecules*, 26(10), 2880.
- Alharaty, G., & Ramaswamy, H. S. (2020). The effect of sodium alginate-calcium chloride coating on the quality parameters and shelf life of strawberry cut fruits. *Journal of Composites Science*, 4(3), 123.
- Alsaraf, S., Hadi, Z., Al-Lawati, W. M., Al Lawati, A. A., & Khan, S. A. (2020). Chemical composition, *in vitro* antibacterial and antioxidant potential of Omani Thyme essential oil along with *in silico* studies of its major constituent. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 1021-1028.
- Amor, G., Sabbah, M., Caputo, L., Idbella, M., De Feo, V., Porta, R., . . . Mauriello, G. (2021). Basil essential oil: Composition, antimicrobial properties, and microencapsulation to produce active chitosan films for food packaging. *Foods*, 10(1), 121.
- Bai, M., Jin, X., Cen, Z., Yu, K., Yu, H., Xiao, R., . . . Li, Y. (2021). GC-MS and FTIR spectroscopy for the identification and assessment of essential oil components of five cinnamon leaves. *Brazilian Journal of Botany*, 44(3), 525-535.
- Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti, A. G., & Maggi, F. (2017). Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of *Rosmarinus officinalis*. *Industrial Crops and Products*, 107, 305-311.

- Baldim, J. L., Silveira, J. G. F., Almeida, A. P., Carvalho, P. L. N., Rosa, W., Schripsema, J., . . . Luiz, J. H. H. (2018). The synergistic effects of volatile constituents of *Ocimum basilicum* against foodborne pathogens. *Industrial Crops and Products*, 112, 821-829.
- Bassolé, I., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Obame, L., Ilboudo, A., Franz, C., . . . Dicko, M. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, 18(12), 1070-1074.
- Beigi, M., Torki-Harchegani, M., & Ghasemi Pirbalouti, A. (2018). Quantity and chemical composition of essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves under different drying methods. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 267-276.
- Cui, H., Zhang, C., Li, C., & Lin, L. (2019). Antibacterial mechanism of oregano essential oil. *Industrial Crops and Products*, 139, 111498.
- De Sousa, A. C., Gattass, C. R., Alviano, D. S., Alviano, C. S., Blank, A. F., & Alves, P. B. (2004). *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 56(5), 677-681.
- El Atki, Y., Aouam, I., El Kamari, F., Taroq, A., Nayme, K., Timinouni, M., . . . Abdellaoui, A. (2019). Antibacterial activity of cinnamon essential oils and their synergistic potential with antibiotics. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 10(2), 63.
- El Euch, S. K., Hassine, D., Cazaux, S., Bouzouita, N., & Bouajila, J. (2019). *Salvia officinalis* essential oil: Chemical analysis and evaluation of anti-enzymatic and antioxidant bioactivities. *South African Journal of Botany*, 120, 253-260.
- Firmino, D. F., Cavalcante, T. T., Gomes, G. A., Firmino, N., Rosa, L. D., de Carvalho, M. G., & Catunda Jr, F. E. (2018). Antibacterial and antibiofilm activities of *Cinnamomum* sp. essential oil and cinnamaldehyde: antimicrobial activities. *The Scientific World Journal*, 2018.
- Foray, L., Bertrand, C., Pinguet, F., Soulier, M., Astre, C., Marion, C., . . . Besière, J.-M. (1999). *In vitro* cytotoxic activity of three essential oils from *Salvia* species. *Journal of Essential Oil Research*, 11(4), 522-526.
- Hasheminejad, N., Khodaiyan, F., & Safari, M. (2019). Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles. *Food Chemistry*, 275, 113-122.

- Helal, G., Sarhan, M., Abu Shahla, A., & Abou El-Khair, E. (2007). Effects of *Cymbopogon citratus* L. essential oil on the growth, morphogenesis and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* ML2-strain. *Journal of Basic Microbiology*, 47(1), 5-15.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Nigam, P. S., Ashraf, M., & Gilani, A. H. (2010). Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(11), 1827-1836.
- Jafari-Sales, A., & Pashazadeh, M. (2020). Study of chemical composition and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 3(1), 62-69.
- Jiang, Y., Wang, D., Li, F., Li, D., & Huang, Q. (2020). Cinnamon essential oil Pickering emulsion stabilized by zein-pectin composite nanoparticles: Characterization, antimicrobial effect and advantages in storage application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 148, 1280-1289.
- Kačániová, M., Galovičová, L., Borotová, P., Valková, V., Ďúranová, H., Kowalczewski, P. Ł., . . . Vukic, M. (2021). Chemical composition, *in vitro* and in situ antimicrobial and antibiofilm activities of *Syzygium aromaticum* (Clove) essential oil. *Plants*, 10(10), 2185.
- Kaskatepe, B., Kiymaci, M. E., Suzuk, S., Erdem, S. A., Cesur, S., & Yildiz, S. (2016). Antibacterial effects of cinnamon oil against carbapenem resistant nosocomial *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Industrial Crops and Products*, 81, 191-194.
- Kathirvel, P., & Ravi, S. (2012). Chemical composition of the essential oil from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and its *in vitro* cytotoxicity against HeLa and HEP-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts. *Natural Product Research*, 26(12), 1112-1118.
- Kaur, K., Kaushal, S., & Rani, R. (2019). Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil, its major compound and its derivatives. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(5), 1195-1217.
- Kim, Y. W., You, H. J., Lee, S., Kim, B., Kim, D. K., Choi, J.-B., Lee, J. S. (2017). Inactivation of norovirus by lemongrass essential oil using a norovirus surrogate system. *Journal of Food Protection*, 80(8), 1293-1302.

- Leimann, F. V., Gonçalves, O. H., Machado, R. A., & Bolzan, A. (2009). Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology. *Materials Science and Engineering: C*, 29(2), 430-436.
- Luo, K., Zhao, P., He, Y., Kang, S., Shen, C., Wang, S., Shi, C. (2022). Antibacterial effect of oregano essential oil against *Vibrio vulnificus* and its mechanism. *Foods*, 11(3), 403.
- Majewska, E., Kozłowska, M., Gruszczynska-Sekowska, E., Kowalska, D., & Tarnowska, K. (2019). Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil: extraction, composition, bioactivity and uses for food preservation-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(4).
- Mediouni, S., Jablonski, J., Tsuda, S., Barsamian, A., Kessing, C., Richard, A., Even, Y. (2020). Oregano oil and its principal component, carvacrol, inhibit HIV-1 fusion into target cells. *Journal of Virology*, 94(15), e00147-00120.
- Minami, M., Kita, M., Nakaya, T., Yamamoto, T., Kuriyama, H., & Imanishi, J. (2003). The inhibitory effect of essential oils on herpes simplex virus type-1 replication *in vitro*. *Microbiology and Immunology*, 47(9), 681-684.
- Mith, H., Dure, R., Delcenserie, V., Zhiri, A., Daube, G., & Clinquart, A. (2014). Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Science and Nutrition*, 2(4), 403-416.
- Moazeni, M., Davari, A., Shabanzadeh, S., Akhtari, J., Saeedi, M., Mortyeza-Semnani, K., . . . Roohi, B. (2021). *In vitro* antifungal activity of *Thymus vulgaris* essential oil nanoemulsion. *Journal of Herbal Medicine*, 28, 100452.
- Moore-Neibel, K., Gerber, C., Patel, J., Friedman, M., & Ravishankar, S. (2012). Antimicrobial activity of lemongrass oil against *Salmonella enterica* on organic leafy greens. *Journal of Applied Microbiology*, 112(3), 485-492.
- Mukarram, M., Choudhary, S., Khan, M. A., Poltronieri, P., Khan, M., Ali, J., Shahid, M. (2022). Lemongrass essential oil components with antimicrobial and anticancer activities. *Antioxidants*, 11(1), 1-20.
- Naik, M. I., Fomda, B. A., Jaykumar, E., & Bhat, J. A. (2010). Antibacterial activity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil against some selected pathogenic bacterias. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(7), 535-538.

- Nikolić, M., Glamočlija, J., Ferreira, I. C., Calhelha, R. C., Fernandes, Â., Marković, T., Soković, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 183-190.
- Nikolić, M., Jovanović, K. K., Marković, T., Marković, D., Gligorijević, N., Radulović, S., & Soković, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, and cytotoxic properties of five Lamiaceae essential oils. *Industrial Crops and Products*, 61, 225-232.
- Nirmala, M. J., Durai, L., Gopakumar, V., & Nagarajan, R. (2019). Anticancer and antibacterial effects of a clove bud essential oil-based nanoscale emulsion system. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 6439.
- Oliveira, R. C., Carvajal-Moreno, M., Correa, B., & Rojo-Callejas, F. (2020). Cellular, physiological and molecular approaches to investigate the antifungal and anti-aflatoxigenic effects of thyme essential oil on *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry*, 315, 126096.
- Pyankov, O. V., Usachev, E. V., Pyankova, O., & Agranovski, I. E. (2012). Inactivation of airborne influenza virus by tea tree and eucalyptus oils. *Aerosol Science and Technology*, 46(12), 1295-1302.
- Rahimifard, N., Haji, M. H., Hedayati, M., Bagheri, O., Pishehvar, H., & Ajani, Y. (2010). Cytotoxic effects of essential oils and extracts of some *Mentha* species on Vero, Hela and Hep2 cell lines. *Journal of Medicinal Plants*, 9(35), 88-92.
- Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U., & Saller, R. (2009). Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties—an overview. *Complementary Medicine Research*, 16(2), 79-90.
- Roselló, J., Sempere, F., Sanz-Berzosa, I., Chiralt, A., & Santamarina, M. P. (2015). Antifungal activity and potential use of essential oils against *Fusarium culmorum* and *Fusarium verticillioides*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(2), 359-367.
- Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Delfino, S., Cardile, V., Bruno, M. (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 42-47.
- Sadeh, D., Nitzan, N., Chaimovitch, D., Shachter, A., Ghanim, M., & Dudai, N. (2019). Interactive effects of genotype, seasonality and extraction method

- on chemical compositions and yield of essential oil from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Industrial Crops and Products*, 138, 111419.
- Sertel, S., Eichhorn, T., Plinkert, P. K., & Efferth, T. (2011). Cytotoxicity of *Thymus vulgaris* essential oil towards human oral cavity squamous cell carcinoma. *Anticancer Research*, 31(1), 81-87.
- Silva-Espinoza, B. A., Palomares-Navarro, J. J., Tapia-Rodriguez, M. R., Cruz-Valenzuela, M. R., González-Aguilar, G. A., Silva-Campa, E., Ayala-Zavala, J. F. (2020). Combination of ultraviolet light-C and clove essential oil to inactivate *Salmonella* Typhimurium biofilms on stainless steel. *Journal of Food Safety*, 40(3), e12788.
- Stanojevic, L. P., Marjanovic-Balaban, Z. R., Kalaba, V. D., Stanojevic, J. S., Cvetkovic, D. J., & Cakic, M. D. (2017). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(6), 1557-1569.
- Taie, H. A. A., & Radwan, S. (2010). Potential activity of basil plants as a source of antioxidants and anticancer agents as affected by organic and bio-organic fertilization. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 119-127.
- Tammar, S., Salem, N., Bettaieb Rebey, I., Sriti, J., Hammami, M., Khammassi, S., Msaada, K. (2019). Regional effect on essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus capitatus* L. *Journal of Essential Oil Research*, 31(2), 129-137.
- Vimalanathan, S., & Hudson, J. (2014). Anti-influenza virus activity of essential oils and vapors. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 2(1), 47-53.
- Vosoughi, N., Gomarian, M., Pirbalouti, A. G., Khaghani, S., & Malekpoor, F. (2018). Essential oil composition and total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of sage (*Salvia officinalis* L.) extract under chitosan application and irrigation frequencies. *Industrial Crops and Products*, 117, 366-374.
- Wijesundara, N. M., & Rupasinghe, H. V. (2018). Essential oils from *Origanum vulgare* and *Salvia officinalis* exhibit antibacterial and anti-biofilm activities against *Streptococcus pyogenes*. *Microbial Pathogenesis*, 117, 118-127.
- Wu, Z., Tan, B., Liu, Y., Dunn, J., Martorell Guerola, P., Tortajada, M., Ji, P. (2019). Chemical composition and antioxidant properties of essential

oils from peppermint, native spearmint and scotch spearmint. *Molecules*, 24(15), 2825.

Zhao, Y., Chen, R., Wang, Y., Qing, C., Wang, W., & Yang, Y. (2017). *In vitro* and *in vivo* efficacy studies of *Lavender angustifolia* essential oil and its active constituents on the proliferation of human prostate cancer. *Integrative Cancer Therapies*, 16(2), 215-226.

Zu, Y., Yu, H., Liang, L., Fu, Y., Efferth, T., Liu, X., & Wu, N. (2010). Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells. *Molecules*, 15(5), 3200-3210.