

# Gli oli essenziali come antimicrobici: il ruolo dei singoli componenti chimici nel modulare l'azione antibatterica, antifungina e antiossidante.



SAPIENZA  
UNIVERSITÀ DI ROMA

Facoltà di Farmacia e Medicina

Corso di Laurea in

Scienze Farmaceutiche Applicate

Tesi sperimentale in Chimica Farmaceutica

Anno Accademico 2022 – 2023

Laureanda: Bianca Cruciani

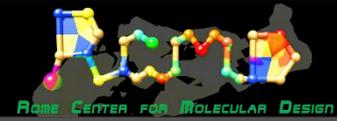
Matricola: 1949433

Relatore: Prof Rino Ragno

Correlatore: Dottoressa Alessandra Oliva



# Scopo della tesi



COMPOSTI PURI				TIMO
$\alpha$ -pinene	Myrcene	$\beta$ -caryophyllene	Limonene	Olio essenziale e idrolato
Citral	Eucalyptol	p-cymene	$\gamma$ -terpinene	
Citronellal	Linalool	$\alpha$ -phellandrene	Geraniol	
Terpinen-4-ol	$\beta$ -pinene	Thymol	Carvacrol	



Attività antimicrobica e antimicotica

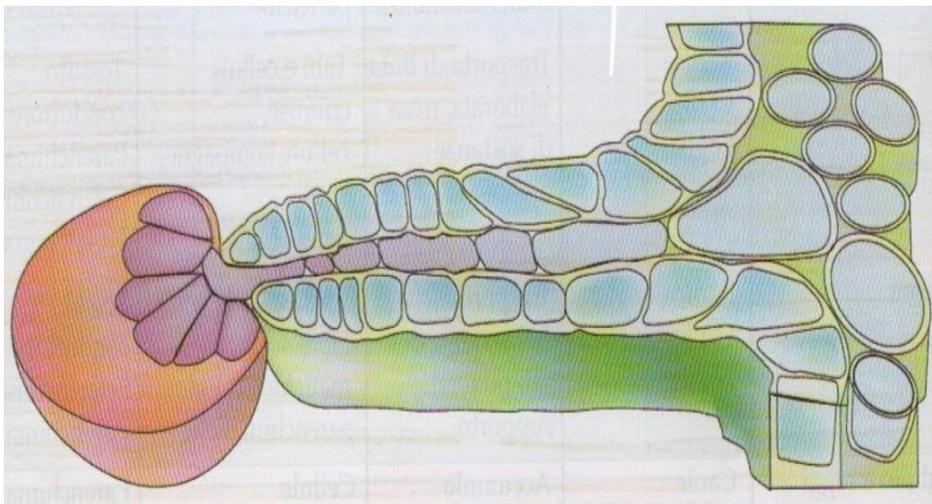


Attività antiossidante

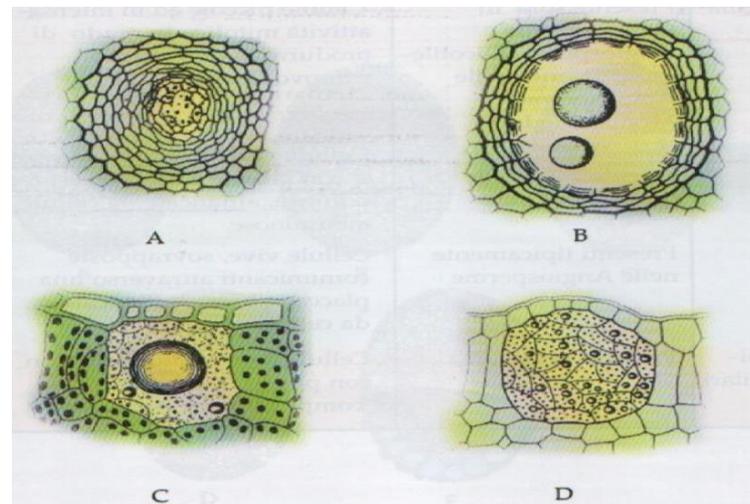


# Gli oli essenziali

- Presenti in più di 17.000 piante appartenenti a una cerchia ristretta di famiglie: *Apiacea*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Piperaceae*, *Poaceae*, *Rutaceae*, *Zingiberaceae*.
- Contenute in particolari strutture scelte delle piante superiori



Peli secretori



Canali



composti da idrocarburi di cui occupano una grossa parte  
**TERPENI**



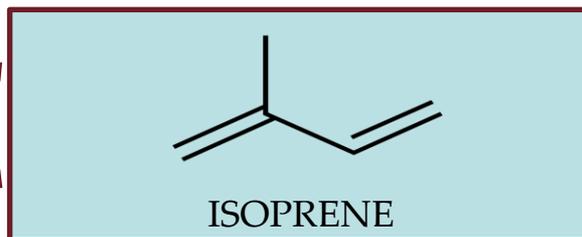
## ACIDO MEVALONICO

1. Reazione decarbossillazione
2. Reazione deidratazione



X2 MONOTERPENI

X3 SESQUITERPENI



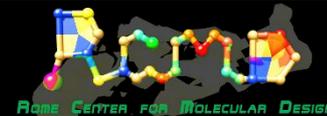
X4 DITERPENI

X6 TRITERPENI

X8 TETRATERPENI



# Proprietà oli essenziali



- **Proprietà terapeutiche**
  - Egitto 3500 a.C.
  - Mesopotamia 2600 a.C.
  - Shennong Bencao Jing 200 – 300 a.C.
- **Proprietà microbiologiche**
- **Disturbi d'ansia**
  - Campo dell'aromaterapia

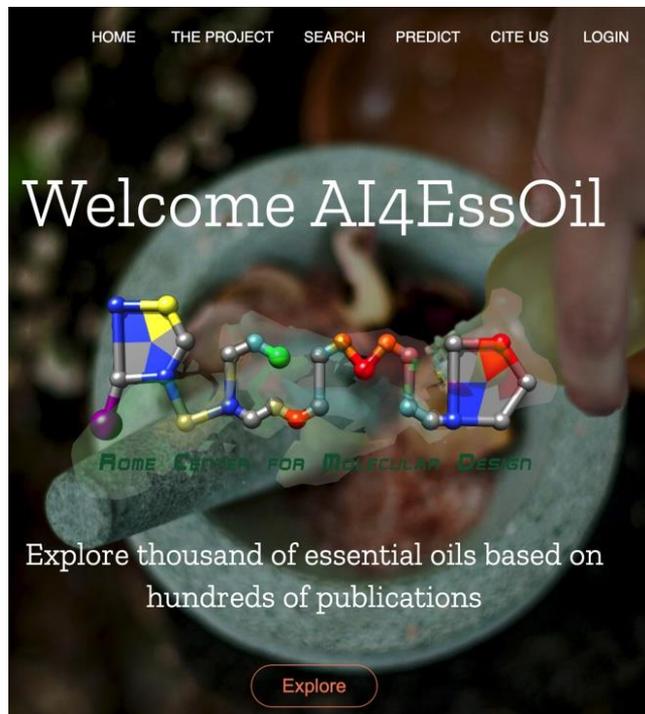
## Impiego e attività svolte dagli oli essenziali



- **Attrazione degli insetti impollinatori**
  - Simulazione dall'aroma degli ormoni sessuali che insetti
- **Attività antibiotiche**
  - di difesa chimica della pianta verso l'attacco di microrganismi
- **Attività difensive**
  - sapore amaro terpenoidi
- **Allelopatia**
  - Preservazione della specie botanica



AI4EssOil [*Artificial Intelligence for(4) Essential Oil*] è un nuovo sito, creato con l'obiettivo di riunire più dati sperimentali possibili sugli oli essenziali



<https://www.ai4essoil.com>

## Stats

2767	1110	1243	20952
Extracts compositions	Plants	Publications analysed	Biological activities stored

## INSERIMENTO DEI DATI

1. Descrizione della pianta utilizzata nello studio
2. Compilazione della composizione chimica
3. Inserimento dei dati relativi alle proprietà biologiche

Attraverso un'analisi incentrata su 30 dei principali composti puri maggiormente presenti nelle formulazioni degli oli essenziali disponibili in AI4EssOil

<b><math>\alpha</math>-pinene</b>	<b>64,7 %</b>	<b><math>\gamma</math>-terpinene</b>	<b>40,2 %</b>	Copaene	27,6 %
<b><math>\beta</math>-caryophyllene</b>	<b>63,9 %</b>	Umulene	39,9 %	$\alpha$ -terpinene	27,2 %
<b>Limonen</b>	<b>54,1 %</b>	<b>Eucalyptol</b>	<b>39,1 %</b>	(z)- $\beta$ -oxime	26,5 %
<b><math>\beta</math>-pinene</b>	<b>50,3 %</b>	Camphene	36,6 %	<b><math>\alpha</math>-phellandrene</b>	<b>25,8 %</b>
<b>Myrcene</b>	<b>48,5 %</b>	(+)- $\delta$ -cadinene	33,6 %	$\alpha$ -thujene	22,3 %
<b>Linalool</b>	<b>48 %</b>	(-)-germacrene d	32,7 %	Camphor	22 %
$\alpha$ -terpineol	44,8 %	Sabinene	30,4 %	Bornyl acetate	21 %
4-carvomenthenol	43,1 %	Terpinolene	28,3 %	$\beta$ -elemene	19,8 %
Caryophyllene oxide	41,7 %	Spathulenol	28,1 %	(+)- $\gamma$ -cadinene	18,8 %
<b>p-cymene</b>	<b>40,9 %</b>	<b>Borneol</b>	<b>27,9 %</b>	<b>Carvacrol</b>	<b>17,1 %</b>

Dei 30 composti puri su cui si è incentrata l'analisi precedente, 16 sono i composti da noi selezionati per lo studio dell'attività microbiologica

$\alpha$ -pinene	Linalool	Eucalyptol	Citral
Myrcene	$\alpha$ -phellandrene	p-cymene	$\gamma$ -terpinene
Limonene	Geraniol	Citronellolo	Thymol
Carvacrol	Terpinen-4-ol	$\beta$ -pinene	$\beta$ -cariofillene

## MSSA



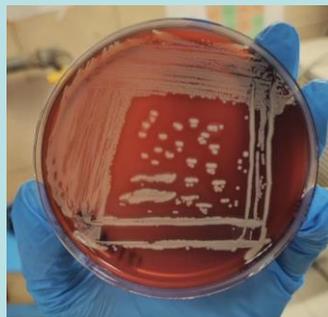
### ➤ GENERALITÀ

- Gram +

### ➤ TERRENO

- Agar sangue

## MRSA



### ➤ RESISTENZA

- Gene MecA
- Proteina PBP2a

### ➤ TERRENO

- Agar sangue

## *Acinetobacter baumannii*



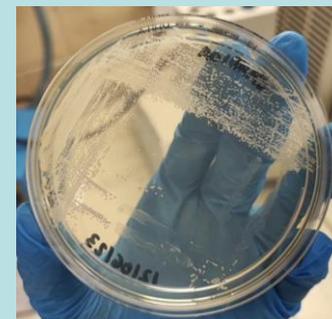
### ➤ GENERALITÀ

- Gram -

### ➤ TERRENO

- Agar MacConkey

## *Candida albicans*



### ➤ GENERALITÀ

- Principale fungo patogeno nell'uomo

### ➤ TERRENO

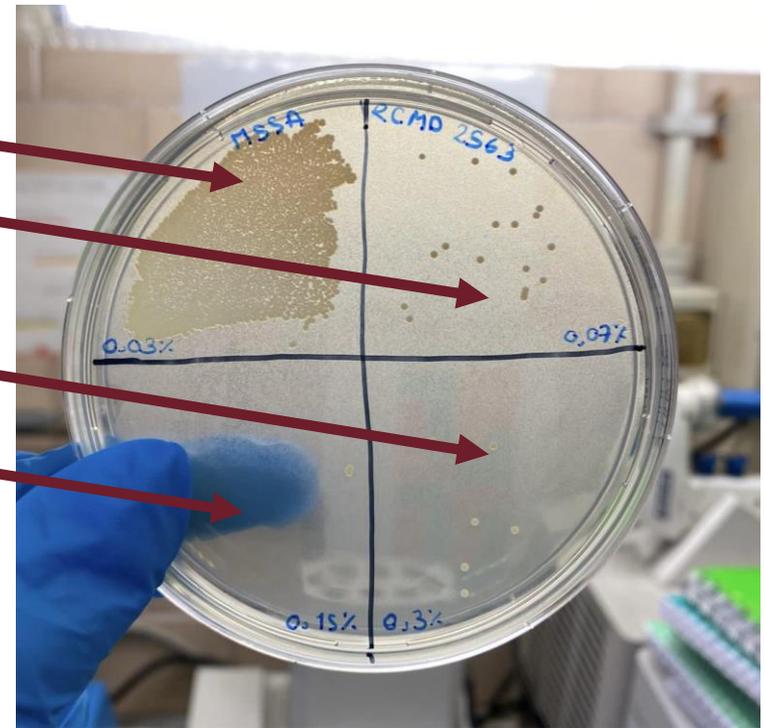
- Muller Hinton agar



# Saggi microbiologici

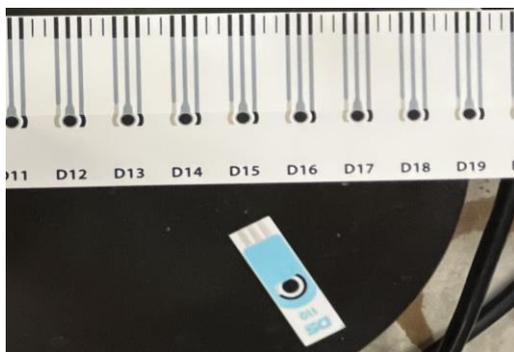


MIC



MBC/MFC

Lo screening è stato effettuato mediante l'applicazione di una nuova tecnica elettrochimica, che si avvale dell'utilizzo:



## ELETTRODI

monouso serigrafati  
stampati su un supporto  
in plastica e in ceramica



## POTENZIOSTATO EmStat4R

## SOFTWARE PSTRACE (VER.5.1)

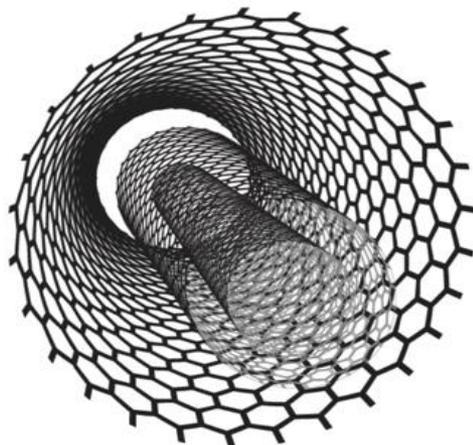
in modalità "scient",  
questo ci permette di  
effettuare sia scansione  
lineari che di  
**voltammetria ciclica =**  
applicazione all'elettrodo di  
un potenziale più modo da  
indurre ox - rid di una  
specie elettroattiva



# Modifica dell'elettrodo

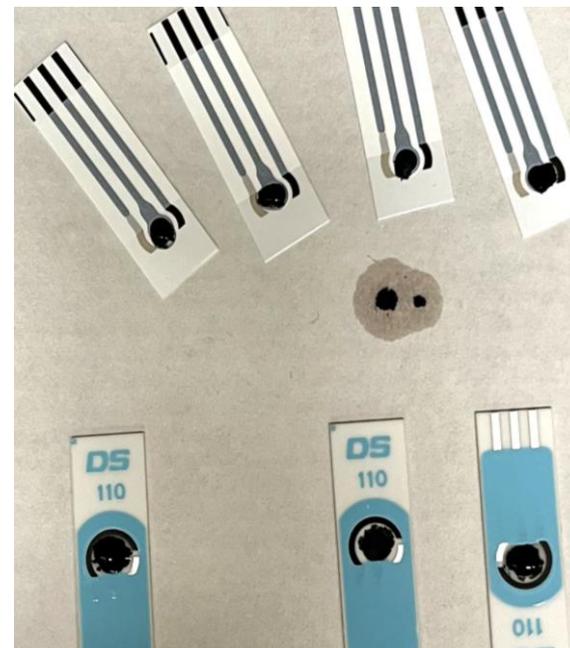
Per aumentare la conducibilità elettrica abbiamo sfruttato la tecnologia dei nanotubi di carbonio per apportare modifiche all'elettrodo nudo

MWCNT



7-100 nm

Sonicata a freddo  
per 20 minuti

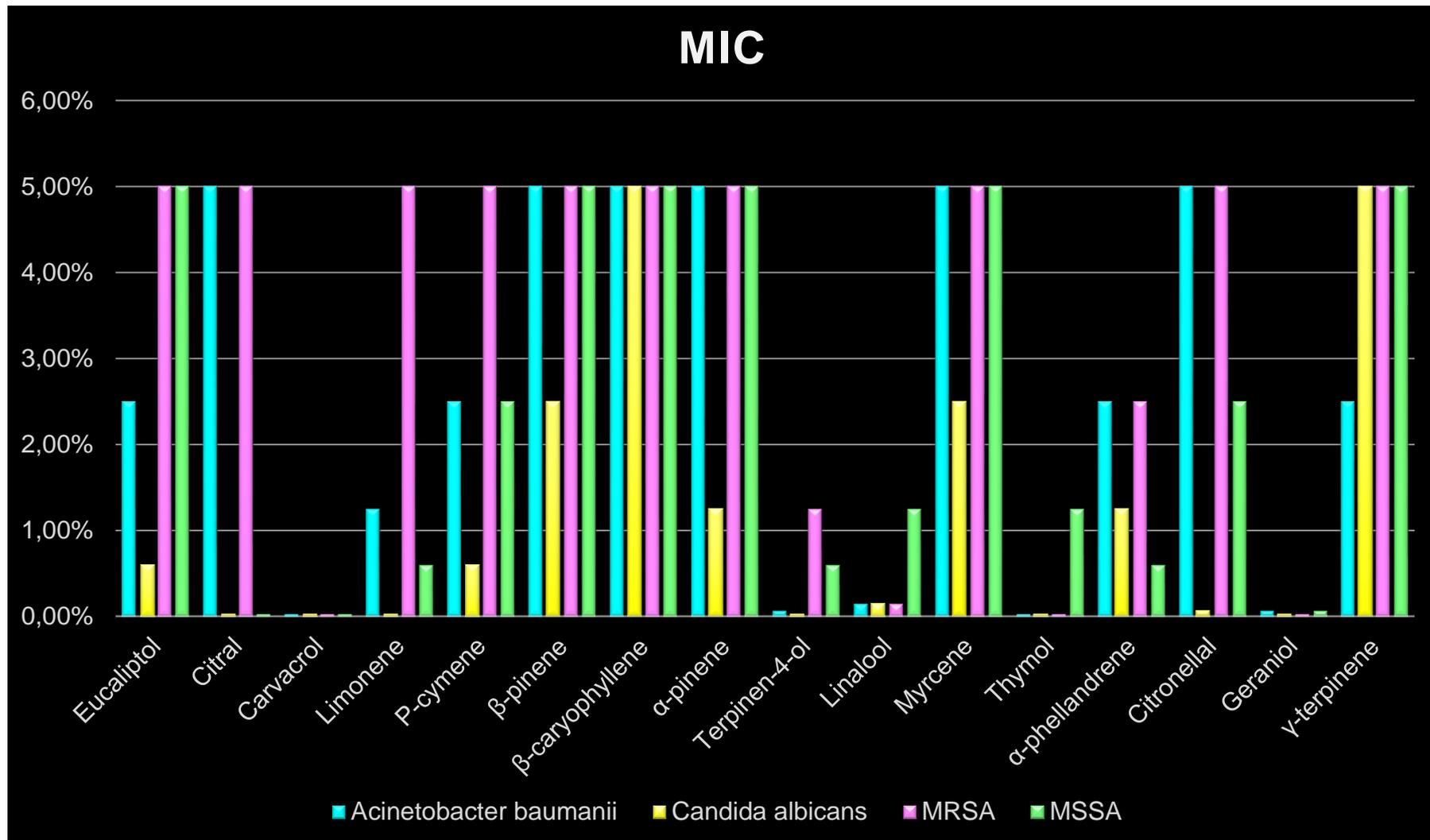


# Risultati attività microbiologica

	<i>Acinetobacter baumannii</i>		<i>Candida albicans</i>		MRSA		MSSA	
	MIC (%V/V)	MBC (% V/V)	MIC (%V/V)	MFC (%V/V)	MIC (%V/V)	MBC (% V/V)	MIC (%V/V)	MBC (% V/V)
EUCALYPTOL	2,5%	2,5%	0,6%	2,5%	>5%	n.e	5%	>5%
CITRAL	5%	5%	≤ 0,03%	0,07%	>5%	n.e	≤ 0,03%	0,15%
CARVACROL	≤ 0,03%	≤ 0,03%	≤ 0,03%	≤ 0,03%	≤ 0,03%	≤ 0,03%	≤ 0,03%	≤ 0,03%
LIMONENE	1,25%	1,25%	≤ 0,03%	≤ 0,03%	5%	5%	0,6%	1,25%
P-CYMENE	2,5%	2,5%	0,6%	1,25%	5%	>5%	2,5%	5%
β-PINENE	>5%	n.e	2,5%	5%	>5%	n.e	>5%	n.e
β-CARYOPHYLLENE	>5%	n.e	>5%	n.e	>5%	n.e	>5%	n.e
α-PINENE	>5%	n.e	1,25%	2,5%	>5%	n.e	>5%	n.e
TERPINEN-4-OL	0,07%	0,07%	≤ 0,03%	0,15%	1,25%	2,5%	0,6%	1,25%
LINALOOL	0,15%	0,15%	0,15%	1,25%	0,15%	1,25%	1,25%	1,25%
MYRCENE	>5%	n.e	2,5%	>5%	>5%	n.e	>5%	n.e
THYMOL	≤ 0,03%	≤ 0,03%	≤ 0,03%	≤ 0,03%	≤ 0,03%	0,3%	1,25%	2,5%
α-PHELLANDRENE	2,5%	>5%	1,25%	5%	2,5%	>5%	0,6%	2,5%
CITRONELLAL	>5%	n.e	0,07%	0,3%	>5%	n.e	2,5%	>5%
GERANIOL	0,07%	0,07%	≤ 0,03%	0,07%	≤ 0,03%	0,15%	0,07%	0,07%
γ-TERPINENE	2,5%	2,5%	5%	5%	5%	>5%	5%	5%

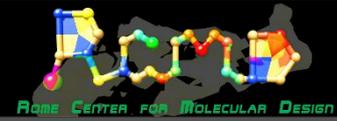


# Confronto valori MIC

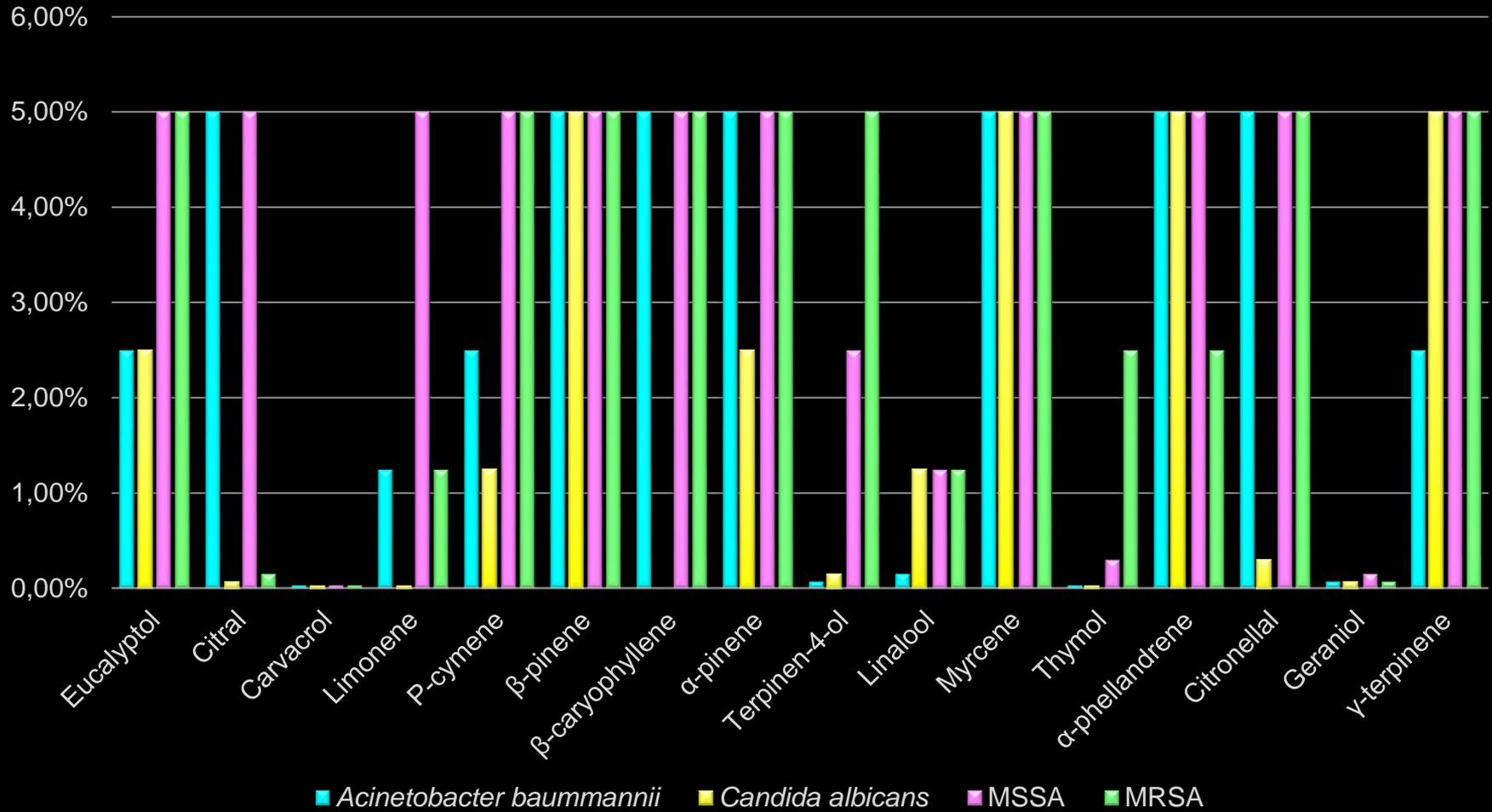




# Confronto valori MBC - MFC



## MBC - MFC

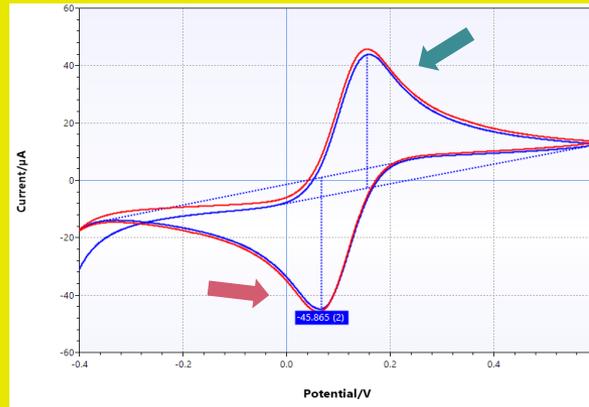




# Risultati attività antiossidante

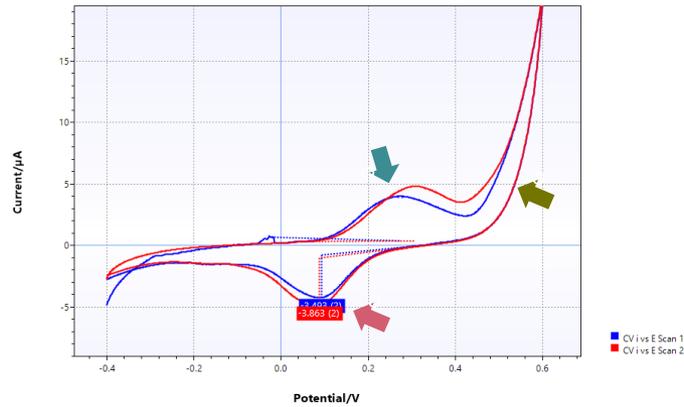
- ANTI - OX
- RID
- INTERFERENZA

## Ferrocianuro di potassio

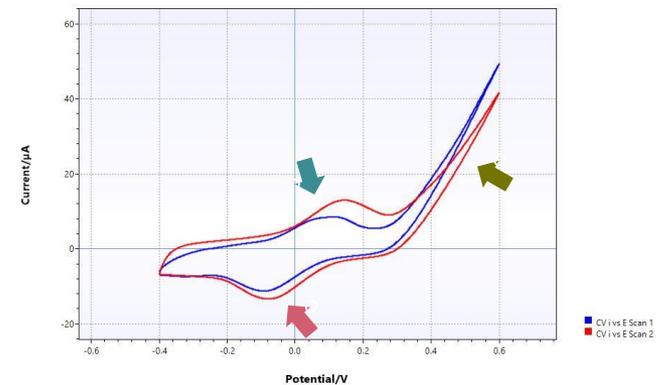


mostra reazione reversibile ox - rid

## Olio essenziale



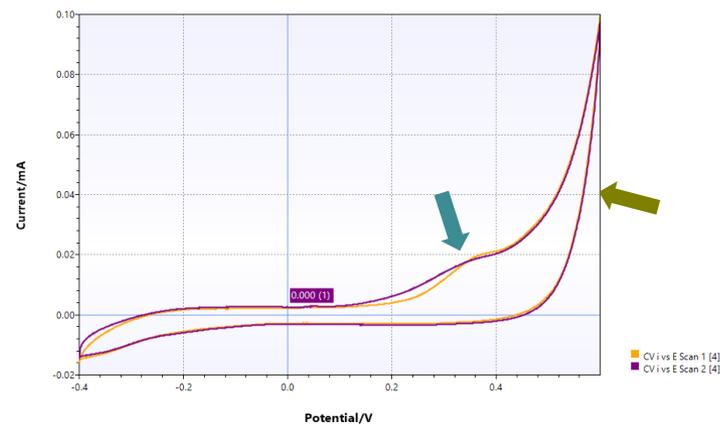
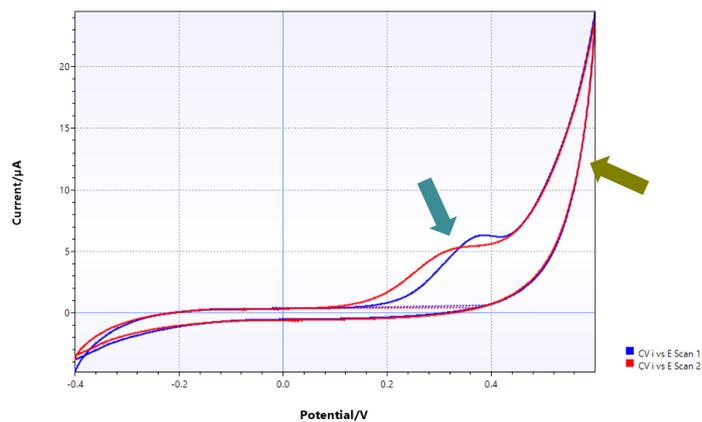
## Idrolato di timo



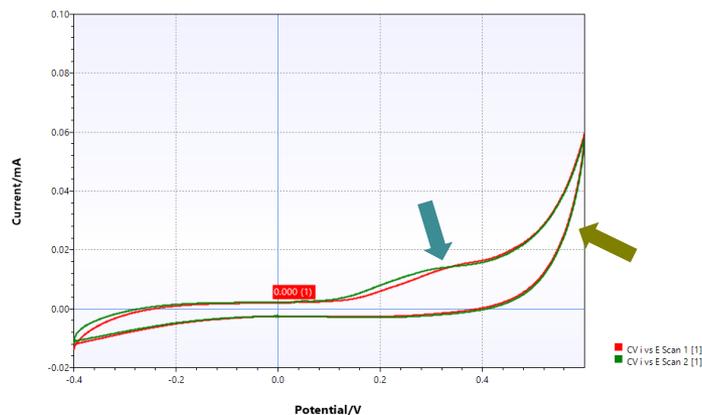


# Risultati attività antiossidante

## Carvacrolo

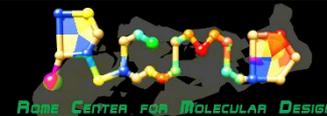


## Timolo





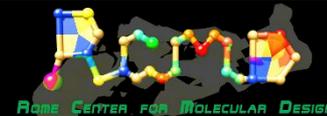
# Conclusioni



- Il database AI4EssOil: inserimento di nuovi dati e analisi dei dati
- Il carvacrolo ha presentato in tutti i saggi eseguiti valori massimi  $\leq 0,03\%$
- Nel timolo abbiamo osservato un'attività batteriostatica e battericida nell'*Acinetobater baumannii* e *Candida albicans* a concentrazioni  $\leq 0,03\%$
- Nel geraniolo abbiamo riscontrato valori compresi tra 0,07% e lo 0,03% v/v nella quasi totalità degli studi su MIC e MBC - MFC
- L'olio essenziale e idrolato di timo si riscontra sia un picco ossidativo che quello indicante la riduzione
- Nel carvacrolo e timolo è presente un' attività antiossidante



# Ringraziamenti



Il Prof Rino Ragno

Dott.ssa Alessandra Oliva

Dott.ssa Roberta Astolfi

Dott. Filippo Umberto Sapienza



**Grazie a tutti per l'attenzione**