

©Borgis

\*Anna Nowak

## Hamujące działanie olejków eterycznych na wirusa HSV-1 i HSV-2

Samodzielna Pracownia Farmakoterapii Dermatologicznej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Kierownik Pracowni: prof. dr hab. Adam Klimowicz

### THE INHIBITORY EFFECT OF ESSENTIAL OIL ON HSV-1 AND HSV-2 VIRUS

#### SUMMARY

*Herpes simplex virus (HSV) is differentiated into two antigenic of types 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) and is an important pathogen for human. HSV is human pathogens which cause epidermal lesions in and around the oral cavity, the eye and in the mucous membrane of the genitals. Infections in immunocompromised patient are more severe. A problem is the emergence of resistant in acyclovir-treated immunocompromised patient. Consequently there is need for effective antiviral therapy. Essential oils are complex natural mixtures, e.g. monoterpenes, sesquiterpenes and phenylpropanoids and have been widely used in traditional medicine. Essential oil have inhibitory effect against HSV-1 i HSV-2. The topical use of essential oils for the treatment of HSV infections seems promising especially for those patients who experience frequent recurrences.*

**KEY WORDS:** ESSENTIAL OILS – HERPEX SIMPLEX VIRUS – MONOTERPENES – ANTIVIRAL ACTIVITY

### Wprowadzenie

Wirusy opryszczki pospolitej (*herpes simplex virus*) należą do rodziny herpesvirusów (HSV) i są bardzo rozpowszechnionymi drobnoustrojami chorobotwórczymi dla człowieka. Obecnie spośród 100 zidentyfikowanych gatunków, co najmniej 8 wywołuje zakażenia u ludzi. Herpesvirusy mają wymiary od 150-200  $\mu\text{m}$ . Replikacja wirusowego DNA ma miejsce w jądrze zakażonej komórki gospodarza (1, 2). *Herpes simplex* typu 1 (HSV-1) jest przyczyną zmian najczęściej wokół ust, oczu, w gardle oraz przełyku, natomiast *herpes simplex* typu 2 (HSV-2) na narządach płciowych i w ich okolicy. Źródłem zakażenia jest człowiek, zarówno z opryszczkowymi wykwitami, ale także w stanie bezobjawowym. Po pierwszym zakażeniu wirus przechodzi w

fazę zakażenia latentnego, gdzie w takiej postaci może pozostać do końca życia w ciele gospodarza. HSV w zwojach nerwowych zakażonego organizmu może przetrwać bardzo długo, zaś jego uaktywnienie następuje pod wpływem różnych czynników, m.in. stresu, menstruacji, przeziębienia, osłabienia organizmu.

Oznakami okresowej, nawracającej infekcji jest najczęściej ból, mrowienie oraz pieczenie, które wyprzedzają klasyczny rozwój wirusa, charakteryzującego się formowaniem pęcherzyków, tworzących następnie nadżerkę na błonie śluzowej lub skórze (3). Nawroty wirusa HSV mogą wystąpić z różną częstotliwością, co uzależnione jest indywidualną reakcją zakażonego organizmu, jednak nawroty HSV-2 są częstsze i bardziej dokuczliwe, niż nawroty HSV-1. Ponadto duża częstotliwość występowania wirusa HSV-2 jest znaczącym czynnikiem transmisji wirusa HIV, co zwiększa ryzyko zakażenia (4).

Szacuje się, że około 85% populacji ludzkiej jest nosicielami wirusa HSV-1. Pomimo, że *herpes* jest najczęściej kojarzony z opryszczką wargową, zapadalność na opryszczkę narządów płciowych (*genital herpes*) może być również spowodowana przez wirusa HSV-1 (3). Infekcja u pacjentów z obniżoną odpornością jest zwykle bardziej uciążliwa niż u pacjentów zdrowych.

Obecnie stosowanych jest kilka dostępnych leków przeciwwirusowych, najczęściej acyklowir i jego pochodne, które blokują jeden z enzymów wirusa, hamując przy tym replikację DNA. Leki te zmniejszają częstotliwość nawrotów oraz łagodzą uciążliwe dolegliwości przy zakażeniu pierwotnym (5). U osób z obniżoną odpornością przebieg infekcji może być ciężki, tym bardziej, że wystąpić może zjawisko oporności na preparaty przeciwwirusowe. Leczenie w takim przypadku jest poważnym problemem. Szacuje

się, że powszechna oporność na kurację acyklowirem u pacjentów z obniżoną opornością wynosi około 6% (6). Dlatego też w ostatnich latach poszukuje się alternatywnej terapii antywirusowej o szerokim zakresie skuteczności. Obiecujące wydają się prowadzone badania z wykorzystaniem ekstraktów roślinnych i olejków eterycznych pozyskiwanych z roślin. Zainteresowanie olejkami eterycznymi w terapii antywirusowej może być alternatywą do stosowanych często syntetycznych leków, zwłaszcza, iż poszukuje się substancji leczniczych o niskiej toksyczności.

### Działanie przeciwwirusowe olejków eterycznych

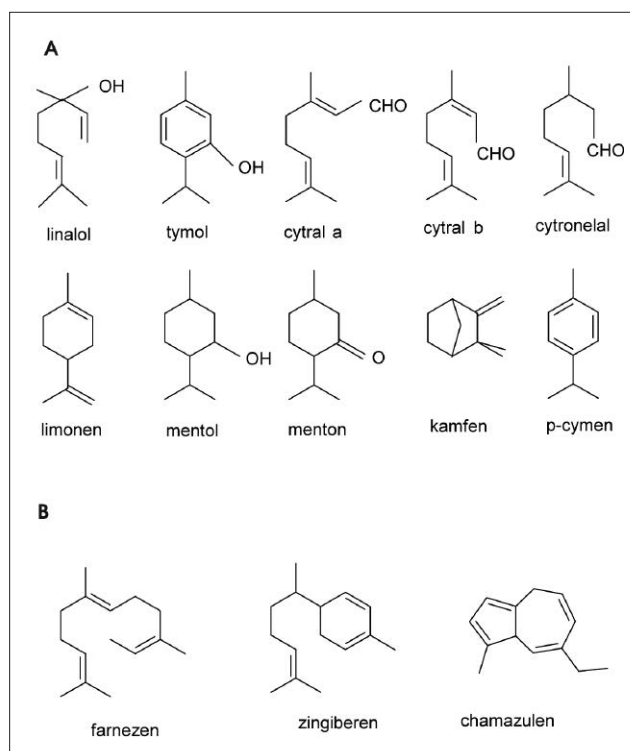
Olejki eteryczne to lotne, zapachowe substancje, należące do wtórnych metabolitów roślinnych. Izolowane są one głównie z owoców, liści, nasion oraz korzeni, najczęściej poprzez destylację z parą wodną. Charakterystyczną cechą olejków eterycznych jest intensywny zapach i wielokierunkowa aktywność biologiczna. Znajdują one zastosowanie jako natu-

ralne substancje zapachowe w kompozycjach perfumeryjnych i aromatach spożywczych, ale również często wykorzystywane są do celów leczniczych (7). W medycynie olejki eteryczne stosowane są głównie do inhalacji przy leczeniu chorób układu oddechowego, tj. zapalenia gardła i zapalenia zatok, ze względu na silne działanie antyseptyczne (8). Do głównych właściwości większości olejków eterycznych można zaliczyć działanie przeciwgrybicze, przeciwbakteryjne i przeciwwirusowe (9-11). Kombinacja wszystkich czynnych składników olejku eterycznego wykazuje określoną aktywność biologiczną (12). Ich antyseptyczne działanie spowodowane jest obecnością mono- i seskwiterpenów.

Olejki eteryczne stanowią grupę związków chemicznych, należącą do terpenów, charakteryzującą się silnym zapachem, często charakterystycznym dla danej rośliny, w której występują (tab. 1). Cechą wspólną monoterpenów jest zawartość w cząsteczce 10 atomów węgla natomiast seskwiterpenów 15 atomów węgla (13) (ryc. 1).

Tabela 1. Główne substancje biologicznie aktywne olejków eterycznych.

Olejek eteryczny	Roślina macierzysta/ rodzina	Podstawowe substancje biologicznie aktywne	Zawartość substancji biologicznie aktywnej (%)	Autor
Olejek rumiankowy	<i>Chamomilla recutita</i> (Asteraceae)	$\alpha$ -bisabolol tlenek bisabololu chamazulen farnezen	27,4-60 2-60 2-23,35 2,60-40	12 7
Olejek hyzopowy	<i>Hyssopus officinalis</i> (Lamiaceae)	izopinokamfon pinokamfon pinokarwon	13,2-43,3 14,9-38,4 0,7-20,3	12 7
Olejek imbirowy	<i>Zingiber officinale</i> (Zingiberaceae)	zingiberen limonen kamfen	18,9 15,5 6,2	12 25
Olejek sandałowy	<i>Santalum album</i> (Santalaceae)	$\alpha$ -santalol $\beta$ -santalol	52,5 20,5	12
Olejek tymiankowy	<i>Thymus vulgaris</i> (Lamiaceae)	tymol p-cymen	40,5 23,6	12
Olejek anyżowy	<i>Pimpinella anisum</i> (Apiaceae)	anetol	89,1	12
Olejek melisowy	<i>Melissa officinalis</i> (Lamiaceae)	cytral a cytral b kariofyllen	6,62-20,13 5,82-13,58 14,24-17,31	20 26
Olejek miętowy	<i>Mentha piperita</i> (Lamiaceae)	mentol menton isomenton	42,8 14,6 5,9	5
Olejek eukaliptusowy	<i>Eucalyptus globulus</i> (Myrtaceae)	1,8-cyneol $\alpha$ -pinen limonen	65-70 14,7 3,0	7
Olejek z drzewa herbacianego	<i>Melaleuca alternifolia</i> (Myrtaceae)	terpinen-4-ol $\gamma$ -terpinen $\alpha$ -terpinen 1,8-cyneol	29-45 18-23 8-11 2-16	27



Ryc. 1. Niektóre monoterpeny (A) i seskwiterpeny (B) występujące w olejkach eterycznych (13, 18, 25).

## Wpływ olejków eterycznych na wirusy HSV

W dostępnej literaturze można znaleźć wiele doniesień o stosowaniu różnych wyciągów z roślin zawierających olejki eteryczne przeciwko wirusom HSV-1 i HSV-2. Przez wielu autorów stosowane były wyciągi wodne z roślin olejkowych, tj. wyciąg wodny z mięty pieprzowej (*Mentha piperita*) (14), z szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*) (15), czy pelargonii (*Pelargonium sidoides*) (16). Carson i wsp. (10) stwierdzili natomiast znaczne skrócenie objawów spowodowanych przez wirusy HSV-2 po aplikacji 6% żelu zawierającego olejek z drzewa herbacianego.

Badania nad wykorzystaniem olejków eterycznych izolowanych z roślin w infekcji wirusami HSV-1 i HSV-2 w większości prowadzone były w warunkach *in vitro*.

W przeprowadzonych doświadczeniach oznaczano wartość  $IC_{50}$  (*inhibitory concentration*), oznaczającą zahamowanie przez badany olejek eteryczny rozwoju wirusa o 50%. Wszystkie olejki eteryczne były stosowane w szerokim zakresie stężeń, wynoszącym od 0,00001 do 0,1%. Analizując przedstawione w tabeli 2 wyniki badań można stwierdzić, że wśród zastosowanych olejków eterycznych najniższym stężeniem hamującym ( $IC_{50}$ ) charakteryzował się olejek melisowy, wynoszącym dla HSV-1 – 0,0004%, natomiast dla HSV-2 – 0,00008%.

Mechanizm działania olejków eterycznych przeciwko wirusom HSV nie jest do końca wyjaśniony. Siddiqui i wsp. (17), Astani i wsp. (18) sugerują, że olejki eteryczne niszczą powłokę strukturalną wirusa otaczającą związki potrzebne do absorpcji komórek gospodarza. Działanie hamujące w odniesieniu do wirusa HSV następuje przed lub w trakcie absorpcji, ale nie po penetracji wirusa do komórek gospodarza, co potwierdzają wyniki badań *in vitro*, gdzie olejki eteryczne były stosowane w różnych stadiach rozwoju wirusa, w trakcie trwania infekcji. Okazało się, że olejki eteryczne działają w trakcie podania przed absorpcją, jeszcze przed wniknięciem do komórek gospodarza (12, 5, 19). Podobnego zdania są Schnitzler i wsp. (20), którzy stwierdzają brak działania przeciwwirusowego po zastosowaniu olejku melisowego (*Melissa officinalis*) już po infekcji do komórek gospodarza lub podczas trwania wewnątrzkomórkowej replikacji wirusa. Umiarkowaną redukcję wirusa (64,8% dla HSV-1 i 39,9% dla HSV-2) autor zaobserwował, gdy wirusy były traktowane olejkami podczas jego absorpcji. Natomiast traktowanie obydwu wirusów (HSV-1 i HSV-2) olejkami przed infekcją spowodowało jeszcze większą ich redukcję. Autor podaje więc celowość stosowania olejków eterycznych na wirusy przed ich wniknięciem do komórek gospodarza, co zmniejszyłoby znacznie infekcyjność.

Rapp i Wrzos (21) sugerują, że testowane olejki eteryczne redukowały infekcję wirusa prawdopodobnie poprzez interakcję z jego otoczką i glikoproteiną, upośledzając zdolności infekowania komórek gospodarza. Grupy hydroksylowe monoterpenów zawartych w olejkach eterycznych prawdopodobnie wchodzi w interakcję z lipidami wirusowego kapsydu i hamują glikozylację białek wirusowych. Armaka i wsp. (22) wykazali, iż izoborneol, występujący w oleju eterycznym z szalwii lekarskiej (*Salvia officinalis*), hamuje glikozylację białek wirusowych, jednak przed wniknięciem do komórek gospodarza. Mechanizm działania hamującego glikozylację wirusową przez monoterpeny na przykładzie izoborneolu autor tłumaczy następująco: wirus HSV może zakodować białka i w szczególności brać udział w glikozylacji białek, zaś izoborneol może bezpośrednio lub pośrednio ingerować z tą funkcją, czego rezultatem jest hamowanie glikozylacji wirusa. Hipoteza ta jest potwierdzona faktem, że indukcja izoborneolu hamuje glikozylację glikoproteiny B (gB) czego nie obserwowano, gdy geny gB znajdowały się w komórkowym genomie. Ponadto obserwowane hamowanie glikozylacji wirusa przez izoborneol może wiązać się z fizjologiczną i strukturalną zmianą w komórkach podczas przebiegu infekcji spowodowanej wirusem HSV. Błona komórkowa zainfekowanych

**Tabela 2.** Wpływ różnych olejków eterycznych na wirusy HSV.

Olejek eteryczny	Metoda	Typ wirusa	Stosowane stężenia	Stężenie hamujące (IC <sub>50</sub> ) (%)	Autor
Olejek rumiankowy Olejek hyzopowy Olejek imbirowy Olejek sandałowy Olejek tymiankowy Olejek anyżowy	<i>in vitro</i> komórki RC-37	HSV-2	0,00001%-0,1%	0,0001 0,0006 0,0001 0,0005 0,0007 0,003	12
Olejek melisowy	<i>in vitro</i> komórki RC-37	HSV-1 HSV-2	0,00001%-0,03%	0,0004 (HSV-1) 0,00008 (HSV-2)	20
Olejek miętowy	<i>in vitro</i> komórki RC-37	HSV-1 HSV-2	0,0001%-0,1%	0,002 (HSV-1) 0,008 (HSV-2)	5
Olejek eukaliptusowy Olejek z drzewa herbacianego	<i>in vitro</i> komórki RC-37	HSV-1 HSV-2	0,006%-0,03%	0,009 (HSV-1) 0,008 (HSV-2) 0,0009 (HSV-1) 0,0008 (HSV-2)	28

komórek jest bardziej delikatna i przepuszczalna, niż przed infekcją komórek, przez co penetracja izoborneolu jest prawdopodobnie łatwiejsza.

Benencia i Courreges (23) badali aktywność eugenolu, będącego głównym monoterpenem olejku goździkowego (*Syzygium aromaticum*) przeciwko wirusom HSV-1 i HSV-2 w warunkach *in vitro* i *in vivo*. W warunkach *in vitro* eugenol hamował istotnie rozwój wirusów HSV-1 i HSV-2 odpowiednio w stężeniach 25,6 µg/ml i 16,2 µg/ml. Natomiast w doświadczeniu *in vivo* zastosowanie eugenolu znacząco opóźniło rozwój wirusowego zakażenia spojówkowego u myszy. Eugenol podany dospójówkowo w stężeniu 1 mg/ml spowodował opóźnienie symptomów choroby do 10 dnia po infekcji (3 dni później niż grupa kontrolna). Dodatkowo autorzy wykazali, że zastosowanie olejków eterycznych w połączeniu z acyklowirem wzmacnia działanie przeciwwirusowe. W badaniach tych wykazano działanie synergistyczne kombinacji acyklowiru i eugenolu, gdzie obydwa składniki razem silniej hamowały replikację wirusa HSV w warunkach *in vitro*. Największy synergizm był obserwowany przy niskiej koncentracji acyklowiru (0,07 i 0,15 µg/ml) i wyższej eugenolu, wynoszącej 120 µg/ml (HSV-1) oraz 30 i 60 µg/ml (HSV-2).

Schnitzer (24) podaje, że mechanizm interakcji pomiędzy składnikami olejku i acyklowiru z HSV-1 jest odmienny: acyklowir hamuje replikację wirusa, zakłócając polimerazę DNA wewnątrz komórki, podczas gdy olejki eteryczne i znajdujące się w nich monoterpeny prawdopodobnie inaktywują HSV przed wniknięciem do komórki.

Podsumowując, można stwierdzić, iż olejki eteryczne mogą być potencjalną, pomocną alternatywą w leczeniu wirusa HSV, natomiast w połączeniu z

innymi lekami przeciwwirusowymi, w odpowiednim stężeniu, mogą wzmacniać działanie przeciwwirusowe. Celowe jest jednak prowadzenie kolejnych badań w celu oznaczenia odpowiednich stężeń danych olejków eterycznych i metody aplikacji, co byłoby szczególnie korzystne u osób z częstymi nawrotami zakażeń wirusami HSV.

#### Piśmiennictwo

- Jakubowicz O, Żaba R, Czarnecka-Operacz M. Leczenie zakażeń wywołanych przez herpes simplex virus typu 1 i 2 oraz Varicella-zoster virus. *Post Dermatol Alergol* 2010; 4:303-7.
- Preiser W, Doerr HW, Vogel J. Virology and epidemiology of oral herpes virus infections. *Med Microbiol Immunol* 2003; 192:133-6.
- Yeung-Yue KA, Brentjens MH, Lee PC i wsp. The management of herpes simplex virus infections. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15:115-22.
- Wald A, Zeh J, Selke S i wsp. Virological characteristics of subclinical and symptomatic genital herpes infections. *N Engl J Med* 1995; 333:770-5.
- Schuhmacher A, Reichling J, Schnitzler P. Virucidal effect of peppermint oil on the enveloped viruses herpes simplex virus type 1 and type 2 *in vitro*. *Phytomed* 2003; 10:504-10.
- Christophers J, Clayton J, Craske J i wsp. Survey of resistance of herpes simplex virus to acyclovir in Northwest England. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:868-72.
- Gora J, Lis A. Najcenniejsze olejki eteryczne. *Wyd Uniw M. Kopernika, Toruń*, 2007; 5:81-8, 106-11, 241-51.
- Fabio A, Cermelli C, Fabio G i wsp. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. *Phytother Res* 2007; 21:374-7.
- Messenger S, Hammer KA, Carson CF i wsp. Assessment of the antibacterial activity of tea tree oil using the European EN 1276 and EN 12054 standard suspension tests. *J Hosp Infect* 2005; 59:113-25.
- Carson CF, Hammer KA, Riley TV. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19:50-62.
- Caelli M, Porteous J, Carson CF i wsp. Tea tree oil as an alternative topical decolonization agent for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 2000; 46:236-7.
- Koch C, Reichling J, Schneele J i wsp. Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2. *Phytomed* 2008; 15:71-8.
- Wyk BE, Wink M. Przegląd metabolitów wtórnych i działań przez nie wywieranych. W: *Rośliny lecznicze świata*

- (red. I Fack). MedPharm Polska, Wrocław 2008; 386. **14.** Harman EC, Kucera LS. Antiviral substances in plants of the mint family (*Labiatae*). 3. Peppermint (*Mentha piperita*) and other mint plants. Proc Soc Exp Biol Med 1967; 124:874-8. **15.** Schnitzler P, Nolkemper S, Stintzing FC i wsp. Comparative *in vitro* study on the anti-herpetic effect of phytochemically characterized aqueous and ethanolic extracts of *Salvia officinalis* grown at two different locations. Phytomed 2008; 15:62-70. **16.** Schnitzler P, Schneider S, Stintzing FC i wsp. Efficacy of an aqueous *Pelargonium sidoides* extract against herpesvirus. Phytomed 2008; 15:1108-16. **17.** Siddiqui YM, Ettayebi M, Haddad AM i wsp. Effect of essential oil on the enveloped viruses: antiviral activity of oregano and glove oils on *herpes simplex* virus type 1 and Newcastle disease virus. Med Sci Res 1996; 24:185-6. **18.** Astani A, Reichling J, Schnitzler P. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. Phytother Res 2010; 24:673-9. **19.** Schnitzler P, Schön K, Reichling J. Antiviral activity of Australian tea tree oil and against herpes simplex virus in cell culture. Pharmazie 2001; 56:343-7. **20.** Schnitzler P, Schuhmacher A, Astani A i wsp. *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. Phytomed 2008; 15:734-40. **21.** Rapp F, Wrzos H. Synergistic effect of human leukocyte interferon and nonoxynol-9 against *Herpes simplex* virus type 2. Antimicrob Agents Chemother 1985; 28:449-51. **22.** Armaka M, Papanikolaou E i wsp. Antiviral properties of isoborneol, a potent inhibitor of herpes simplex virus type 1. Antiviral Res 1999; 43:79-92. **23.** Benecia F, Courreges MC. *In vitro* and *in vivo* activity of eugenol on human herpesvirus. Phytoter Res 2000; 14:495-500. **24.** Schnitzler P, Koch C, Reichling J. Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop and sandalwood. Antimicrob Agents Chemother 2007; 5:1859-62. **25.** Matławska I. Farmakognozja. Wyd AM, Poznań 2005; 314-66. **26.** Allahverdiyev A, Duran N, Ozguven M i wsp. Antiviral activity of volatile oils of *Melissa officinalis* L. against *Herpes simplex* virus type-2. Phytomed 2004; 11:657-61. **27.** Kędzia B, Alkiewicz J, Han S. Znaczenie olejku z drzewa herbacianego w fitoterapii. Cz. I. Skład olejku i jego właściwości biologiczne. Post Fitoter 2000; 2: 36-40. **28.** Schnitzler P, Schön K, Reichling J. Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against *herpes simplex* virus in cell culture. Pharmazie 2001; 56:343-7.

otrzymano/received: 30.06.2011  
zaakceptowano/accepted: 20.07.2011

Adres/address:  
\*dr inż. n. rol. Anna Nowak  
Samodzielna Pracownia Farmakoterapii Dermatologicznej  
Pomorski Uniwersytet Medyczny  
ul. Powstańców Wielkopolskich 72, 70-111 Szczecin  
tel: +48 (91) 466-16-31  
e-mail: ania-woz@wp.pl