



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Instituto de Estudios de Posgrado



Máster Universitario en Salud Pública Veterinaria

Campus Internacional Agroalimentario ceiA3

Trabajo Fin de Máster

Revisión Sistemática

Utilización de aceites esenciales en la lucha contra el SARS-CoV-2.

Use of essential oils in the fight against SARS-CoV-2.

Autor/a: Marcos Prados Siles

Director/a: Belén Huerta Lorenzo

Codirector/a: Ángela Galán Relaño

15/09/2021

Firma del autor/a

Índice general

Índice de figuras	4
Índice de tablas	5
Abreviaturas	6
Resumen	8
Abstract	9
Introducción	10
Pregunta de investigación y objetivos	14
Hipótesis	15
Material y métodos	15
1.1. Pregunta PICO	15
1.2. Bases de datos consultadas	16
1.3. Criterios de búsqueda	16
1.4. Criterios de elegibilidad	17
1.5. Pirámide de Haynes	17
1.6. Validez científica de los estudios seleccionados	18
Resultados y discusión	19
2.1. Búsqueda de información	19
2.2. Síntesis de los resultados obtenidos	21
2.2.1. Propiedades virucidas y mecanismos de acción de los aceites esenciales	21
2.2.2. Potencial virucida de los aceites esenciales frente al SARS-CoV-2 y otros virus de interés en medicina humana y veterinaria	22
2.3. Discusión	32
Limitaciones del TFM	35
Conclusiones	36
Conclusions	37
Bibliografía	38
Anexo 1	46
Anexo 2	48

Índice de figuras

Figura 1. Principales Beta-coronavirus presentes en los animales. Fuente: Profesión Veterinaria 23 (94), 2020.....	10
Figura 2. Imagen en 3D del SARS-CoV-2 obtenida con microscopio crioelectrónico por la Universidad Técnica de Viena (Austria) a partir de muestras extraídas en la Universidad de Tshinghua (Beiging).....	11
Figura 3. Estrategias terapéuticas de los pacientes con COVID-19 según la fase clínica.....	13
Figura 4. Pirámide de Haynes. Fuente: https://rafabravo.blog/2015/12/08/la-nueva-piramide-de-la-evidencia/	18
Figura 5. Esquema representativo de los resultados de la revisión sistemática	20

Índice de tablas

Tabla 1. Total de artículos obtenidos por algoritmo de búsqueda.....	19
Tabla 2. Resumen de los artículos seleccionados en base a los criterios de elegibilidad y la jerarquía de la pirámide de Haynes (evaluación inicial)	19
Tabla 3. Principales principios activos de los aceites esenciales más utilizados en salud y sanidad animal (<i>datos proporcionados por el fabricante</i>)	21
Tabla 4. Resultados de los estudios <i>in vitro</i>	24
Tabla 5. Citotoxicidad de los componentes del aceite esencial de orégano	30

Abreviaturas

A549: célula de carcinoma pulmonar humano

ADV-5: Adenovirus tipo 5

AE(s): Aceite(s) Esencial(es)

CASPe: Critical Appraisal Skills Programme español (Programa de Habilidades en lectura crítica en español)

CC₂₀: es la concentración citotóxica que causa el 20% de muerte celular

CC₅₀: es la concentración citotóxica que causa el 50% de muerte celular

COVID-19: Enfermedad producida por el Coronavirus detectada en 2019

CrFK: Células de Riñón Felino

DeCS/MeSH: Descriptores en Ciencias de la Salud/Medical Subject Headings

EudraCT: European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials Data Base

GRAS: Generalmente Reconocidos como Agentes Seguros

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos

IC₅₀: indica la concentración a la que un fármaco es capaz de inhibir un proceso biológico concreto en un 50%

HSRV: Virus Sincitial Respiratorio Humano

HSV: Herpesvirus Simplex Humano

HEp-2: es la célula de carcinoma epidermoide de laringe

HT –29: líneas celulares de adenocarcinoma colorrectal humano

IBV: Virus de la Bronquitis Infecciosa Aviar

IFV-A: Influenzavirus aviar

LPS: Lipopolisacáridos

MDCK: Células de Riñón Canino Madin-Darby

MRSA: *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes

OIE: Organización Mundial de la Sanidad Animal

OMS (WHO): Organización Mundial de la Salud (World Health Organization)

PIF-CoV: Virus de la Peritonitis Infecciosa Felina (Coronavirus)

PICO: Patient, Intervention, Comparison, Outcomes

PIP: Paediatric Investigation Plan

PRISMA: Preferred Reporting Items of Systematic Reviews and Meta-Analysis

SARS: Síndrome Respiratorio Agudo Severo

SARS-CoV: Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo tipo 1

SARS-CoV-2: Coronavirus del Síndrome Respiratorio Agudo Severo tipo 2

SIV: Virus Inmunodeficiencia de los Simios

VIH: Virus inmunodeficiencia Humana

WoS: Web of Science

ZIKV: Virus ZIKA

Resumen

En diciembre de 2019, surge la enfermedad producida por el coronavirus SARS-CoV-2, conocida como COVID-19. Con origen en Wuhan (Hubei, China), se ha convertido en la mayor pandemia conocida de la edad moderna, afectando a millones de personas a nivel mundial.

Se trata de una enfermedad respiratoria transmitida principalmente a través de aerógenos, lo que ha dificultado en gran medida su control. La imposibilidad de frenar el contagio y la alta tasa de infectividad del virus han llevado a las autoridades sanitarias de todo el planeta a buscar tratamientos de efectividad probada. Sin embargo, la ineficacia de la mayor parte de los medicamentos virucidas conocidos ha abierto la posibilidad a otras alternativas terapéuticas, como sustancias químicas activas de origen natural, entre las que destacan los aceites esenciales.

Los aceites esenciales, debido a sus características físico-químicas y microbiológicas, se postulan como una herramienta útil para la lucha contra esta enfermedad. Es por ello que hemos realizado esta revisión sistemática, con objeto de determinar si, en base al conocimiento científico que tenemos de los aceites esenciales, los podemos incluir como tratamiento etiológico o profiláctico frente al virus causante de esta enfermedad.

De la revisión de la información científica disponible, siguiendo los pasos de la declaración PRISMA 2020, hemos observado que: hay evidencia científica de la acción de los aceites esenciales sobre otros virus con envoltura (a través de estudios *in vivo* e *in vitro*) y que los ensayos *in silico* arrojan resultados prometedores; pero es necesario el desarrollo de estudios más exhaustivos para la confirmación científica.

Palabras clave: coronavirus; COVID; carga vírica; aceites esenciales; lucha.

Abstract

In December 2019, the disease caused by the SARS-CoV-2 coronavirus, known as COVID-19, arises. Originating in Wuhan (Hubei, China), it has become the largest known pandemic of the modern age, affecting millions of people worldwide.

It is a respiratory disease transmitted mainly through aerogens, which has made its control very difficult. The impossibility of stopping the contagion and the high rate of infectivity of the virus have led health authorities around the world to seek treatments of proven effectiveness. However, the ineffectiveness of most of the known virucidal drugs has opened the possibility of other therapeutic alternatives, such as active chemicals of natural origin, among which essential oils stand out.

Essential oils, due to their physical-chemical and microbiological characteristics, are postulated as a useful tool for the fight against this disease. That is why we have carried out this systematic review, in order to determine whether, based on the scientific knowledge we have of essential oils, we can include them as an etiological or prophylactic treatment against the virus that causes this disease.

From the review of the scientific information available, following the steps of the PRISMA 2020 statement, we have observed that: there is scientific evidence of the action of essential oils on other enveloped viruses (through *in vivo* and *in vitro* studies) and the *in silico* trials show promising results; but the development of more exhaustive studies is necessary for scientific confirmation.

Keywords: coronavirus; COVID; viral load; essential oils; fight.

Introducción

En diciembre de 2019, se produce la declaración por parte de China a la Organización Mundial de la Salud (OMS) de la aparición, en la región de Wuhan, de una nueva enfermedad infectocontagiosa que cursa con síntomas respiratorios, similar a otras patologías pulmonares pero con una morbilidad y letalidad muy elevadas.

Se determina su origen vírico como una variante de los Beta-coronavirus conocidos hasta la fecha (Orden *Nidovirales*, familia *Coronaviridae*, subfamilia *Orthocoronavirinae*) (Valencia, 2020), muy prolíficos en el mundo ganadero y propios de las especies criadas de forma intensiva, donde ocasionan grandes pérdidas económicas debido a su repercusión en la sanidad animal (Decaro y Lorusso, 2020; Shereen et al., 2020) (Fig. 1).

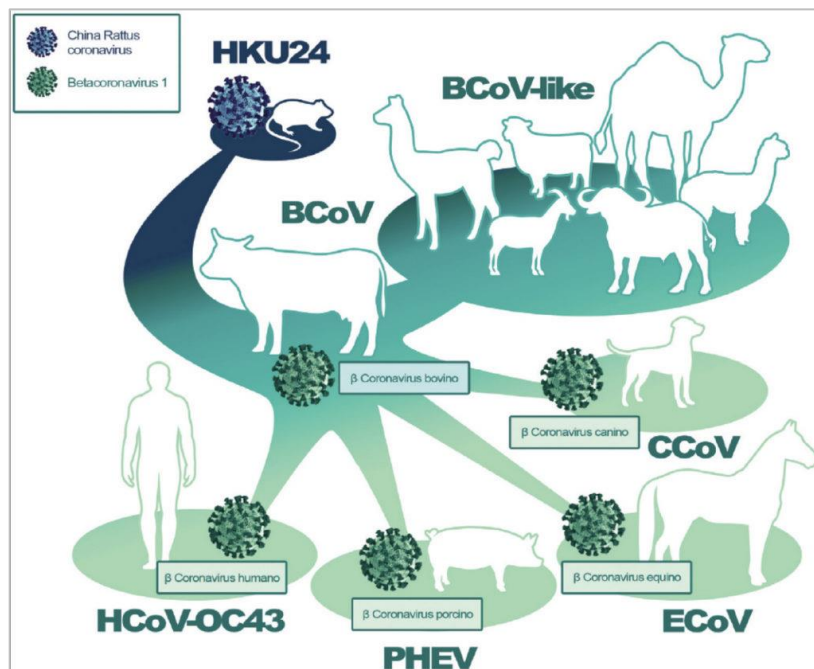


Figura 1. Principales Beta-coronavirus presentes en los animales. Fuente: Profesión Veterinaria 23(94), 2020.

El coronavirus SARS-CoV-2, causante de la COVID-19, pertenece al linaje B de los *Betacoronavirus* y guarda parentesco filogenético (79% de homología) con el virus del SARS-CoV. Su genoma codifica 4 proteínas estructurales: S (*spike*), E (*envelope*); M (*membrane*) y N (*nucleocápside* y única presente en el interior del virus). De las tres proteínas que componen la envoltura del virus, la proteína S es la que forma las estructuras que sobresalen y la que contiene el dominio de unión al receptor celular y determinante del tropismo del virus (Fig. 2).

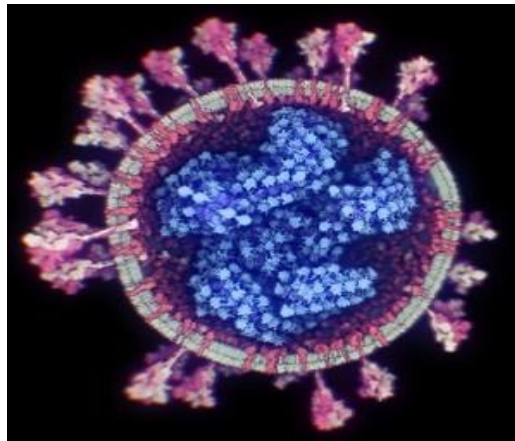


Figura 2. Imagen en 3D del SARS-CoV-2 obtenida con microscopio crioelectrónico por la Universidad Técnica de Viena (Austria), a partir de muestras extraídas en la Universidad de Tshinghua, (Beijing).

Como cualquier enfermedad de nueva aparición en una población indemne, tiene una difusión explosiva y en pocos meses se distribuye a lo largo del planeta, colapsando los servicios sanitarios debido a la falta de tratamientos virucidas efectivos y a su gran velocidad de transmisión. Comienza, entonces, una carrera para caracterizar esta patología y hallar fármacos y vacunas que permitan su control (Colalto, 2020).

En la actualidad, se sabe que la principal vía de transmisión son los aerógenos expulsados por los individuos afectados, que pueden contaminar el medio ambiente, superficies y contagiar a otras personas susceptibles (Yesudhas et al., 2020). Se ha demostrado que cuando el virus entra en el tracto respiratorio glicosila los receptores ACE-2 de las células pulmonares, vía proteína S, y bloquea la ARN polimerasa de la célula hospedadora poniendo en función la suya propia, incrementando, de esta forma, el pH de la célula hospedadora (alcalinización) y alterando los endosomas para facilitar su replicación intracelular (Valencia, 2020).

La gravedad del cuadro depende, en gran parte, de la carga vírica que reciba la persona afectada, pudiendo permanecer asintomática o desarrollar neumonía con fiebre (99% casos), escalofrío, tos seca (59% casos), producción esputos (27% casos), fatiga (70% casos), somnolencia, dolor articular, mialgia (35% casos), dolor de cabeza, disnea (31% casos), náuseas, vómitos, anorexia (40% casos) y diarrea (2% casos). En los casos extremos se produce un aumento de las citoquinas pro-inflamatorias que producen la “tormenta de citoquinas” que desembocan en un Síndrome Agudo Respiratorio Severo (SARS), shock

séptico, acidosis metabólica, problemas en el mecanismo de la coagulación y muerte (Rajendran et al., 2020; Yang et al., 2020).

Si bien no existe un plan unificado de prevención y tratamiento para esta enfermedad, el Ministerio de Sanidad, siguiendo las recomendaciones de la OMS, ha elaborado una serie de documentos técnicos para su difusión entre los profesionales, donde recoge el esquema de lucha frente a esta gravísima enfermedad y que se centra en cuatro frentes diferentes (<https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos.htm>):

- Desarrollo de medidas para disminuir la carga vírica en el medio.
- Desarrollo de virucidas y fármacos que inhiban la proliferación del virus.
- Tratamiento sintomático del SARS.
- Desarrollo de vacunas que prevengan la infección y/o reduzcan la gravedad de la enfermedad y, en consecuencia, su mortalidad.

A pesar de los esfuerzos realizados a nivel mundial, los fármacos que se han utilizado para inhibir el virus (interferón beta-1b, lopinavir, ritonavir, remdesivir, fosfato de cloroquina y sulfato de hidroxicloroquina) no han dado certeza de su efectividad (Wang et al., 2020), probándose varios enfoques según los signos y síntomas de cada paciente (Figura 3).

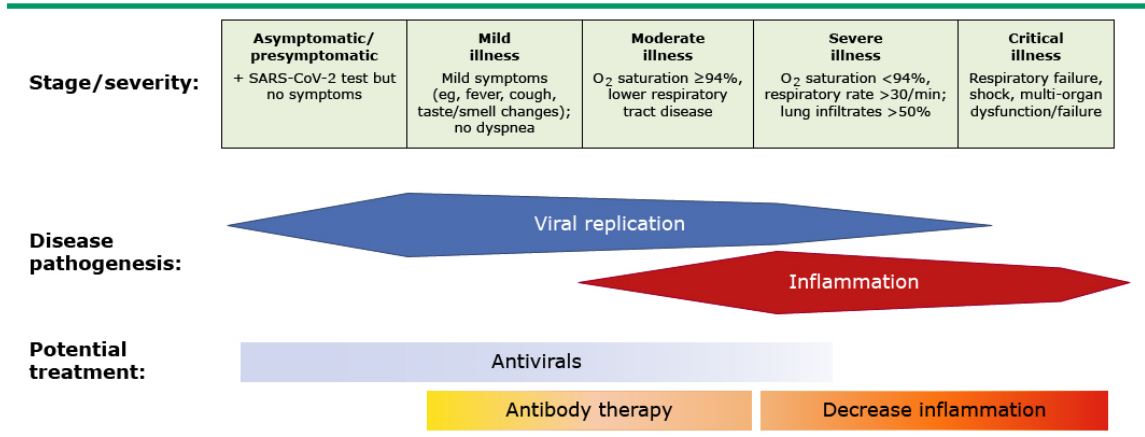
Dependiendo del fármaco, su acción se centra en (Gao et al., 2020; Hoffmann et al., 2020):

- la inhibición de la entrada del virus en la célula huésped: alterando la glicosilación de los receptores ACE2 de las células pulmonares, o por inhibición del cebado de la proteína S y la endocitosis,
- la inhibición de la replicación viral: por bloqueo de la ARN polimerasa dependiente o aumento del pH de las células pulmonares (alcalinización),
- alteración de las funciones de los endosomas, mediante aumento del pH.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios ya advierte en su página oficial que, aunque hay en marcha numerosos ensayos clínicos a nivel mundial, no existe ninguna evidencia procedente de ensayos clínicos controlados que permita recomendar un tratamiento específico para SARS-CoV-2. Ante este panorama, es urgente plantear nuevas

estrategias de lucha frente a esta enfermedad y promover el estudio de otras alternativas terapéuticas, como los aceites esenciales (AEs), con demostradas propiedades antivirales.

Potential targets of COVID-19 therapies by stage of infection



COVID-19: coronavirus disease 2019; SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2.

Reproduced from: Gandhi RT. The Multidimensional Challenge of Treating Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Remdesivir Is a Foot in the Door. Clin Infect Dis 2020; ciaa1132. By permission of Oxford University Press. Copyright © 2020.

UpToDate®

Figura 3. Estrategias terapéuticas de los pacientes con COVID-19 según la fase de clínica.

Los aceites esenciales son una mezcla de compuestos naturales, volátiles, obtenidos de las plantas, con demostradas propiedades antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias e inmunomoduladoras (Deyno et al., 2019; Leyva-López et al., 2017; Ma y Yao et al., 2020; Mani et al., 2020; Tariq et al., 2019; Valdivieso-Ugarte et al., 2019). Aunque muy reconocidos en la medicina tradicional de los países orientales, donde son frecuentes los estudios de sus funciones y su administración como terapéuticos, existe todavía un gran escepticismo sobre su utilización en la medicina occidental (Hensel et al., 2020; Junior et al., 2020; Kaur et al., 2020; Zhang et al., 2020 (a y b)).

Actualmente, se conocen unos 3.000 aceites esenciales, teniendo 300 de ellos relevancia en los sectores farmacéutico, agronómico y alimentario. La mayoría de estos aceites son considerados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) como productos Generalmente Reconocidos como Agentes Seguros (GRAS) y están autorizados para su utilización en alimentación humana y animal como aditivos alimentarios (Díaz-Sánchez et al., 2015). De esta forma, son ampliamente utilizados en sanidad animal para modular la flora patógena intestinal y en el control de infecciones por bacterias multirresistentes, como alternativa a los antibióticos tradicionales (Lorenzi et al., 2009).

Desde finales del siglo XX, se vienen desarrollando, además, numerosas investigaciones para valorar el potencial virucida de los aceites esenciales frente a diferentes virus de interés en medicina humana y veterinaria. Los resultados obtenidos subrayan el potencial de los aceites de orégano, tomillo, canela, clavo y geranio, entre otros, frente al herpes virus humano tipo 1 (HSV-1), virus respiratorio sincitial humano (HRSV), virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), virus de la inmunodeficiencia de los simios (SIV), virus Zika (ZIKV), adenovirus humano tipo 5 (ADV5), virus de la gripe aviar (IFV-A H1N1 y H7N3), virus de la bronquitis infecciosa aviar (IBV-CoV) y virus de la peritonitis infecciosa felina (PIF-CoV) (Astani et al., 2011; Catella et al., 2021; Fátima et al., 2016; Lelesius et al., 2019; Mediouni et al., 2020; Najar et al., 2021; Senthil Kumar et al., 2020; y Yeh et al., 2013).

Pregunta de investigación y objetivos

La revisión sistemática planteada como Trabajo Fin de Máster pretende responder a la siguiente cuestión: *“En base a la evidencia científica existente, ¿podrían utilizarse los aceites esenciales o sus principios activos en el tratamiento etiológico y la prevención de la COVID-19?”*.

Objetivo principal: Determinar si existe evidencia científica suficiente y de calidad para integrar el uso de los aceites esenciales en la lucha contra la COVID-19, en base a la bibliografía publicada sobre las propiedades y mecanismos de acción de los aceites esenciales más utilizados en medicina humana y veterinaria frente al SARS-CoV-2 y otros virus de interés en Salud Pública.

Para cumplir este objetivo, el TFM se estructuró de la siguiente manera:

1. Búsqueda bibliográfica estructurada y explícita sobre las propiedades virucidas de los aceites esenciales y su potencial eficacia frente al SARS-CoV-2 y otras infecciones víricas.
2. Síntesis y discusión de los resultados obtenidos en los artículos consultados, para
 - a. Determinar los aceites esenciales con mayor potencial virucida.
 - b. Establecer la posible utilidad de los aceites esenciales y sus principios activos en el tratamiento etiológico y la prevención de la COVID-19.

Hipótesis

Dado el potencial virucida demostrado por los aceites esenciales frente a diversos virus de interés en medicina humana y veterinaria, esperamos encontrar evidencias científicas que avalen su utilización en pacientes infectados, para reducir la carga viral, y como medida de profilaxis en la desinfección de ambientes y superficies.

Material y métodos

La revisión bibliográfica se ha realizado siguiendo las recomendaciones de la declaración PRISMA 2020, de manera que para diseñar la estrategia de búsqueda bibliográfica se siguieron los siguientes pasos:

1. Elaboración de una pregunta estructurada (usando la metodología PICO).
2. Determinación de las fuentes y los criterios de búsqueda.
3. Selección de los artículos en base a:
 - Los criterios de elegibilidad previamente establecidos.
 - El nivel de evidencia científica (“Pirámide de Haynes”).
 - La calidad científica (herramienta CASPe).

1.1. Pregunta PICO

En base a la metodología *PICO* (del inglés Patient, Intervention, Comparison, Outcomes), se planteó la siguiente pregunta: *¿Es útil el uso de aceites esenciales en la lucha contra la COVID?*

Se estableció el siguiente *escenario clínico*: *Personas expuestas a la infección por coronavirus y pacientes (asintomáticos y clínicos) sobre los que queremos valorar la utilidad de los aceites esenciales en la disminución y/o esterilización del medio ambiente en contacto con estos sujetos y el tratamiento etiológico de la infección/enfermedad.*

Los componentes PICO de la pregunta serían:

- *Población*: Personas expuestas al virus (a partir del medio ambiente y/o superficies contaminadas) y pacientes infectados por SARS-CoV-2.
- *Intervenciones*: Uso de aceites esenciales como terapéuticos y/o desinfectantes para reducir la carga vírica.
- *Comparación*: Con otro tipo de desinfectantes, virucidas y/o tratamientos medicamentosos.
- *Resultado*: Valorar el resultado de los estudios realizados y comparar con otros tratamientos empleados frente a los virus.

1.2. Bases de datos consultadas

- PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- Web of Science (<https://www.recursoscientificos.fecyt.es/>)
- Scopus (<https://www.scopus.com/home.uri>)

Además, ha sido de gran relevancia la información contenida en las páginas web oficiales de la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE), OMS, Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social y la de la Consejería de Salud y Familias de la Junta de Andalucía.

1.3. Criterios de búsqueda

Para el inicio del trabajo se ha utilizado la herramienta DeCS/MeSH (Descriptor en Ciencias de la Salud), que es básica para la búsqueda estructurada de información científica y permite el uso de terminología común para la búsqueda en múltiples idiomas (Muñoz y Salas, 2011). Con este sistema se han determinado los descriptores del trabajo para su introducción en las bases de datos mencionadas, utilizando para ello los operadores booleanos “AND” y “OR” (debido a la gran cantidad de publicaciones aparecidas sobre este tema desde el año 2019 no ha sido preciso usar otros operadores booleanos como “NOT”).

Los algoritmos de búsqueda empleados han sido:

- (Essential oils OR Volatile oils) AND (COVID OR Coronavirus) (a)
- (Human COVID OR Human coronavirus) AND (Treatment) (b)
- (COVID OR Coronavirus) AND (Treatment) (c)

- (COVID OR Coronavirus) AND (Disinfection) (d)
- (Essential oils OR Volatile oils) AND (Disinfection) AND (Virus) (e)

1.4. Criterios de elegibilidad

Debido a la gran cantidad de artículos encontrados, se aplicaron los siguientes criterios de elegibilidad (inclusión/exclusión):

1. **Año de publicación:** artículos publicados a partir de 2017, aunque, por su interés se incluyeron algunos muy concretos de años anteriores.
2. **Acceso:** Artículos con acceso completo.
3. **Idioma:** castellano e inglés.
4. **Objetivos del estudio:** estudios de eficacia que se acompañasen del estudio citotóxico del producto ensayado.
5. En base a las herramientas de búsqueda de Web of Science (WoS):
 - a. **Número de citas del artículo:** se escogieron aquellas con 6 o más citas.
 - b. Dependiendo de la revista dónde se publicó el artículo, se aplicó:
 - i. **Índice de calidad de la publicación:** se escogieron artículos publicados en revistas con un factor de impacto igual o superior a 3 en la media de los últimos 5 años.
 - ii. **Índice de calidad de la revista en que se publicó:** cuartil que ocupa la revista en las categorías del JCR: igual o superior al Q2 (en caso de estar en varias categorías del JCR, se escogieron los que tenían en la mitad de categorías o más una calificación Q1 o Q2).

1.5. Pirámide de Haynes

Para organizar el material bibliográfico se siguió la “Pirámide de las 6S de Haynes”, que organiza mediante una estructura jerárquica la evidencia útil para la investigación médica de los diferentes recursos bibliográficos, además de ofrecer una guía sobre el orden de referencia de las publicaciones, *debiendo comenzar, siempre que sea posible, por la cúspide de la pirámide* (Muñoz y Salas, 2011) (Fig. 4).



Figura 4. Pirámide de Haynes. Fuente: <https://rafabravo.blog/2015/12/08/la-nueva-piramide-de-la-evidencia/>

1.6. Validez científica de los estudios seleccionados

Para evaluar la calidad de los artículos hallados se ha utilizado la herramienta CASPe (Anexo 1) (<https://www.redcaspe.org/herramientas/instrumentos>), en la que, en base a una serie de preguntas sobre el contenido de los estudios, se les asigna una puntuación (1 punto por pregunta respondida con un sí, hasta un máximo de 10 puntos).

Le herramienta CASPe divide las 10 preguntas en 3 apartados:

- a) *¿Son válidos los resultados de la revisión?*
- b) *¿Cuáles son los resultados?*
- c) *¿Son los resultados aplicables a mi trabajo?*

Sólo se seleccionaron para este TFM aquellos estudios con una puntuación superior a 6. La lectura crítica y estructurada de estos artículos nos ha permitido, además, identificar los grupos nacionales e internacionales con mayor repercusión en este tema (Anexo 2). Que haya gran cantidad de grupos investigando sobre el tema nos puede dar una idea de la importancia y potencial de los aceites esenciales como terapia alternativa a los tratamientos medicamentosos.

Resultados y discusión

2.1. Búsqueda de información

Siguiendo las bases de la declaración PRISMA 2020 (Preferred Reporting Items of Systematic Reviews and Meta-Analysis), a fecha 01/09/2021, la búsqueda bibliográfica ofreció un total de 211.080 referencias (Tabla 1). Tras una breve lectura de los abstract de las primeras publicaciones que aparecían listadas para cada algoritmo, se decidió centrar la revisión en los algoritmos (a) y (e), ya que su contenido se adecuaba más al objetivo de esta revisión (total 242 artículos).

Tabla 1. Total de artículos obtenidos por algoritmo de búsqueda.

<i>Algoritmo</i>	<i>Pubmed</i>	<i>WoS</i>
(a)	52	181
(b)	63.405	26.917
(c)	77.836	39.134
(d)	1.771	1.775
(e)	9	<i>No results</i>

Una vez aplicados los criterios de elegibilidad y la jerarquía de evidencia de la Piramide de Haynes, se seleccionaron para la evaluación final a texto completo un total de 71 trabajos (Tabla 2), de los cuales se descartaron 20 tras la lectura crítica con la herramienta CASPe.

Tabla 2. Resumen de los artículos seleccionados en base a los criterios de elegibilidad y la jerarquía de la pirámide de Haynes (evaluación inicial).

Artículos seleccionados en la evaluación inicial	
<i>Systematic reviews</i>	3
<i>Reviews</i>	51
<i>Articles</i>	11
<i>Other</i>	6
Total	71

Durante la revisión de estos artículos se encontraron referencias a diversos estudios, anteriores a 2017, que por el interés de su contenido también se evaluaron para su utilización en la revisión sistemática (Figura 5), incluyéndose finalmente en este TFM un total de 60 trabajos.

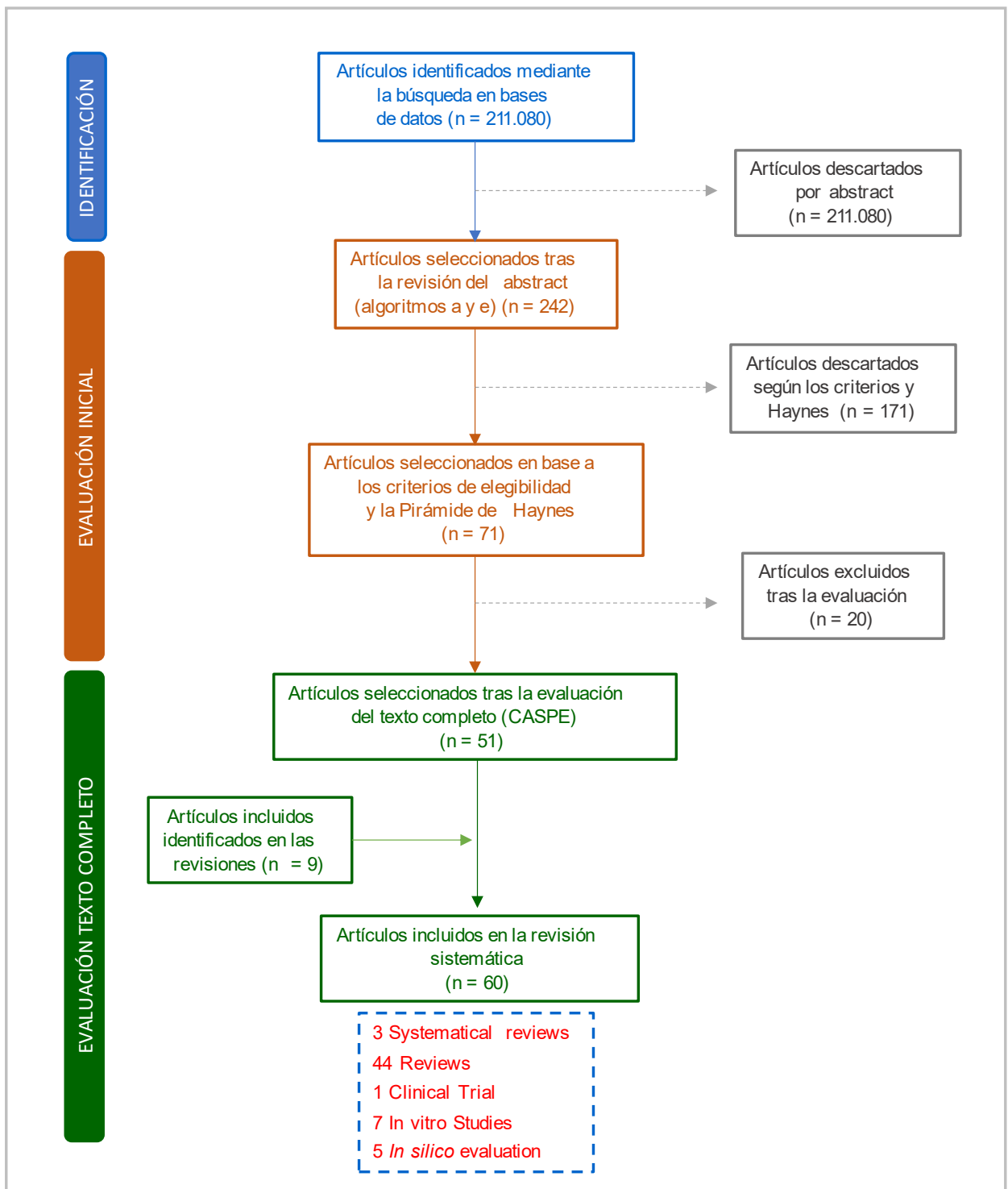


Figura 5. Esquema representativo de los resultados de la revisión sistemática.

2.2. Síntesis de los resultados obtenidos

2.2.1. Propiedades virucidas y mecanismos de acción de los aceites esenciales

Un aceite esencial es una mezcla compleja de sustancias químicas pertenecientes a diferentes clases: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres y fenoles. Sus componentes mayoritarios pueden constituir hasta un 85% del total mientras que el resto se presentan en trazas, considerándose en general que los componentes presentes en menor proporción tienen un papel crítico en la actividad antimicrobiana, debido posiblemente a un efecto sinérgico entre ellos, de forma que el aceite suele tener mayor actividad que sus principios activos por separado (Burt, 2004). Son muchos los factores que influyen en su composición. Entre los más importantes estarían el origen, la especie, el órgano y la madurez de la planta, las condiciones climáticas y de crecimiento y el método de obtención. Como consecuencia de ello, para un mismo aceite podemos encontrar distintos tipos químicos (quimiotipo), que varían en la proporción de sus compuestos y, en consecuencia, en sus propiedades farmacológicas, citotoxicidad y efectos adversos (Langeveld et al., 2014).

Dentro de los principios activos de los aceites esenciales se pueden distinguir dos grandes grupos: hidrocarburos terpénicos y compuestos aromáticos. Entre los terpenos, presentes de forma mayoritaria, podemos destacar el timol, carvacrol, linalool y geraniol; entre los compuestos aromáticos, generalmente minoritarios, se encuentran el cinamaldehído y el eugenol (Jakhetia et al., 2010). Generalmente, los aceites esenciales que poseen notables propiedades antimicrobianas contienen un alto porcentaje de compuestos fenólicos como carvacrol y timol (Tabla 3).

Tabla 3. Principales principios activos de los aceites esenciales más utilizados en salud y sanidad animal (*datos proporcionados por el fabricante*).

Aceite Esencial	Especie botánica	Principales principios activos*
Clavo	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Eugenol (85-90%), acetato de eugenilo (5-10%), β -Caryophyllene (0-5%)
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Cinamaldehído (70%), linalool (3%), eugenol (3%)
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucaliptol (63%), α -pineno (14%)
Geranio	<i>Pelargonium Graveolens</i>	Geraniol (13%), citronelol (9%), linalool (1%)
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	Carvacrol (63%), timol (11%), γ -terpineno (8%)
Pimienta	<i>Piper nigrum</i>	Piperina (53-57%), limoneno (2-4%), α -pineno (1-4%)
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	Timol (47%), p-cimeno (22%), γ -terpineno (9%), linalool (5%)

Su mecanismo de acción es similar al de otros fenoles, es decir, alteran la membrana citoplasma, el flujo de electrones y el transporte activo, provocando la coagulación de los contenidos celulares. El carvacrol y el timol son además capaces de desintegrar la membrana externa de las bacterias Gram negativas, liberando lipopolisacáridos (LPS) e incrementando la permeabilidad de la misma a los AE (Ultee et al., 2002; Valdivieso-Ugarte et al., 2019).

En el caso concreto de los virus, los estudios indican que las acciones principales: rotura de los enlaces de las proteínas de membrana por interferencia lipofílica; bloqueo de la unión de los receptores de membrana por unión; e interrupción de los mecanismos de replicación intracelular de los virus. Aunque los mecanismos de acción no están completamente definidos (Asif et al., 2020).

2.2.2. Potencial virucida de los aceites esenciales frente al SARS-CoV-2 y otros virus de interés en medicina humana y veterinaria

Estudios *in silico*

La mayoría de los estudios realizados con aceites esenciales y sus principios activos frente al SARS-CoV-2 son trabajos *in silico*.

Estos trabajos consisten en el estudio a través de métodos computacionales basados en el diseño de ingeniería química 3D del *molecular docking*, acoplamiento molecular que predice la conformación y posición idónea de una molécula para interactuar con otra y que se usa para el diseño de nuevos fármacos. Esta simulación por ordenador permite valorar la capacidad del aceite esencial y sus componentes para unirse a estructuras del SARS-CoV-2 (como la proteasa MPro) o los receptores de las células hospedadoras (como el receptor ACE2).

Los resultados obtenidos sugieren una notable actividad del eugenol, mentol y carvacrol frente a la principal proteasa del SARS-CoV-2 (MPro), lo que inhibiría la replicación vírica (da Silva et al., 2020 y Sharma et al., 2020). En el caso de la piperina (componente de la pimienta negra), la inhibición de la replicación intracelular del virus se produciría por unión a la proteína N del virus (Choudhary et al., 2020).

Trabajos similares han demostrado el potencial del geraniol, carvacrol y cinamaldehído como bloqueadores de la ARN-polimerasa vírica (Elfiky et al., 2021). Estos dos últimos compuestos, al igual que el timol, han demostrado además una notable eficacia

sobre los lipopolisacáridos que inducen los daños agudos pulmonares; el cinamaldehído actuaría, además, regulando la liberación de citoquinas inflamatorias (Kulkarni et al., 2020).

Estudios *in silico* desarrollados en la India, (Sampangi et al., 2021), para tratar de demostrar la afinidad de unión de productos naturales al SARS-CoV-2, determinaron la afinidad de diferentes componentes del AE de tomillo (apigenin, ácido oleanólico, ácido rosmarínico y ácido ursólico) con la proteasa M del coronavirus. Curiosamente, los autores no emplearon el timol, componente mayoritario de este aceite esencial.

Por su parte, los estudios de Thuy et al. (2020) con aceite esencial del ajo, destacaron la afinidad de 17 de sus 18 componentes con la proteína ACE2 y la capacidad del aceite completo para formar estructuras con esta proteína, apoyando su uso como tratamiento frente al SARS-CoV-2.

Estudios *in vitro*

La revisión sistemática realizada muestra cierta ciclicidad en el tiempo, con un repunte cada 10 años del número de publicaciones sobre las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales. Las etapas más productivas en estudios científicos fueron finales del siglo XX (*salta la alarma sobre las resistencias antimicrobianas*), primera década del presente siglo (*prohibición de los antibióticos como promotores del crecimiento animal*) y los últimos 2 años (*publicación del Plan Mundial de Acción contra las Resistencias Antimicrobianas*). Sin embargo, la mayoría de los trabajos publicados en esta última época se basan en revisiones de estudios *in vitro* realizados en algunos casos hace más de 10 años.

A pesar, o como consecuencia, de la novedad de esta enfermedad no se han encontrado hasta la fecha estudios *in vitro* de calidad sobre la actividad de los aceites esenciales frente al SARS-CoV-2. Sin embargo, muchos autores han propuesto su utilización en el control de esta infección en base al efecto virucida observado frente a otros virus envueltos de interés en medicina humana y veterinaria. Sus resultados se exponen a continuación (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados de los estudios *in vitro*.

CANELA / CINAMALDEHIDO					
Artículo	País	Tipo de estudio	Sustancias ensayadas	Resultados de citotoxicidad	Potencial virucida
Yeh et al., 2013	Taiwan	<i>In vitro</i> ensayos de reducción de placa en células HEP-2 y A549 Virus HSRV	Aceite esencial completo (<i>Cinnamomum cassia</i>) Ribavirin	AE Canela: máxima concentración no citotóxica > 1.000 µg/mL. CC ₅₀ 2541,2 µg/mL (HEP-2) CC ₅₀ 1936,8 µg/mL (A549) Ribavirin: no se determina	<i>Se realizó tratamiento en las células previo al inóculo y posterior, viendo que el AE es más efectivo tras inocular el virus en líneas celulares.</i> <i>Por encima de 300 µg/mL inhibe expresión proteína F.</i> IC₅₀ 7,2 µg/mL (Hep-2) IC₅₀ 6,8 µg/mL (A549) Ribavirin: IC ₅₀ 30 µg/mL (Hep-2 y A549)
Fátima et al, 2016	Pakistán	<i>In vitro</i> ensayos con nanopartículas de plata (AgNPs) en células Vero IFV-A (H7N3)	Nanopartículas de plata con extracto acuoso de corteza de canela (<i>Cinnamomum cassia</i>)	AgNPs: máxima concentración no citotóxica > 500 µg/mL. CC ₅₀ > 500 µg/mL	<i>Se realizó tratamiento: sobre el inóculo, en las células previo al inóculo y posterior; el AE es más efectivo si se aplica sobre el virus antes de inocular.</i> <i>Dosis > 250 µg/mL poseen el mismo efecto sobre la inhibición de replicación del virus se independientemente del momento de aplicación.</i> IC₅₀ 101 µg/mL (durante la inoculación) IC₅₀ 125 µg/mL (después de inocular) <i>No determinaron IC₅₀ aplicándolo directamente al inóculo.</i>
CLAVO / EUGENOL					
Artículo	País	Tipo de estudio	Sustancias ensayadas	Resultados de citotoxicidad	Potencial virucida
Astani et al., 2011	Alemania	<i>In vitro</i> dosis-respuesta en líneas celulares RC-37 Virus HSV-1	Eugenol β-cariopropileno Aceite esencial de anís estrellado (<i>Illicium verum</i>) Acyclovir	Eugenol: máxima concentración no citotóxica 60 µg/mL. CC ₅₀ 85 µg/mL AE anís: máxima concentración no citotóxica 100 µg/mL CC ₅₀ 160 µg/mL β-cariopropileno: máxima concentración no citotóxica 10 µg/mL. CC ₅₀ 35 µg/mL Aciclovir: no se determina	<i>Sólo mostraron potencial en el tratamiento directo del virus antes de la entrada en las células:</i> Eugenol: IC ₅₀ 35 µg/mL AE Anís: IC ₅₀ 1 µg/mL β-cariopropileno: IC ₅₀ 0.25 µg/mL Aciclovir: mayor efectividad que las sustancias naturales (inhibe específicamente la ADN-polimerasa del HSV-1)

EUCALIPTO / EUCALIPTOL					
Artículo	País	Tipo de estudio	Sustancias ensayadas	Resultados de citotoxicidad	Potencial virucida
Najar et al., 2021	Italia	<i>In vitro</i> en células MDCK IFV-A (H1N1)	Eucaliptol	Eucaliptol: máxima concentración no citotóxica > 1.000 µg/mL. CC ₅₀ > 500 µg/mL	<i>Mostró el mismo potencial aplicándose: sobre el inóculo, sobre los cultivos antes de realizar el inóculo y sobre los cultivos después de inocular.</i> Eucaliptol: IC ₅₀ < 50 µg/mL
Mediouni et al., 2020	USA	<i>In vitro</i> dosis-respuesta en líneas celulares T2M-bl Virus VIH-1	AE orégano y sus componentes aislados	Eucaliptol: CC ₅₀ > 500 µg/ml	<i>Sin efecto a dosis no citotóxicas.</i> Eucaliptol: IC ₅₀ > 500 µg/mL
Senthil Kumar et al., 2020	Taiwan	<i>In vitro</i> dosis-respuesta en líneas celulares HT-29 Proteína ACE2	AE Geranio AE Limón AE Eucalipto (hasta un total de 30 AEs)	<i>Se determinó su efecto sobre la expresión del receptor ACE-2</i> AE Eucalipto: IC ₅₀ > 200 µg/mL	<i>Determinación de la actividad de la proteína ACE2 tras exposición A los AE.</i> AE Eucalipto: % actividad de ACE2: 70,5 % (Dosis de 50 µg/mL)
GERANIO / GERANIOL					
Artículo	País	Tipo de estudio	Sustancias ensayadas	Resultados de citotoxicidad	Potencial virucida
Senthil Kumar et al., 2020	Taiwan	<i>In vitro</i> dosis-respuesta en líneas celulares HT-29 Proteína ACE2	AE Geranio AE Limón AE Eucalipto (hasta un total de 30 AEs)	<i>Se determinó su efecto sobre la expresión del receptor ACE-2</i> AE Geranio: IC ₅₀ >200 µg/mL AE Limón: IC ₅₀ 57,93 µg/mL	<i>Determinación de la actividad de la proteína ACE2 tras exposición A los AE.</i> AE Geranio: % actividad de ACE2: 10,70% (Dosis de 50 µg/mL) AE Limón: % actividad de ACE2: 24,79 % (Dosis de 25 µg/mL)

*IC₅₀: en este caso mide la expresión de ACE2 en las células hospedadoras por eso se incluye en la columna de citotoxicidad.

ORÉGANO / CARVACROL					
Artículo	País	Tipo de estudio	Sustancias ensayadas	Resultados de citotoxicidad	Potencial virucida
Mediouni et al., 2020	USA	<i>In vitro</i> dosis-respuesta en líneas celulares TZM-bl Virus VIH-1	AE orégano y sus componentes aislados	AE orégano: CC ₅₀ 54,810±8,4 µg/ml Carvacrol: CC ₅₀ 277,8±9,3 µg/ml Timol: CC ₅₀ > 500 µg/ml Eucaliptol: CC ₅₀ > 500 µg/ml	<i>Con tratamiento pre y post inóculo, vieron que es más efectivo antes de la entrada del virus (actúa sobre la envoltura).</i> AE orégano: IC ₅₀ 104±7,021 µg/ml Carvacrol: IC ₅₀ 16±2,9 µg/ml Timol: IC ₅₀ 25,2±4,9 µg/ml Eucaliptol: IC ₅₀ > 500 µg/mL
Mediouni et al., 2020	USA	<i>In vitro</i> dosis-respuesta en linfocitos T CD4 de macaco Rhesus Virus SIV, IFV-A (H1N1), ZIKV y ADV5	AE orégano Mezcla de antirretrovirales (raltegravir, emtricitabine y tenofovir)	AE orégano: CC ₅₀ 54,810±8,4 µg/ml	<i>AE orégano sólo demostró ser efectivo frente al virus SIV, pero no obtuvo mejores resultados que los fármacos.</i>
Lelesius et al., 2019	Lituania	<i>In vitro</i> dosis-respuesta en células Vero Virus IBV	AE tomillo AE orégano (14 AEs más)	AE orégano: efectos citotóxicos a 7,7 µg/mL. CC ₅₀ 0,52 µg/mL	<i>Sólo mostraron potencial en el tratamiento directo del virus antes de la entrada en las células y durante la infección, una vez que el virus está en el interior de la célula no resultan efectivos:</i> AE orégano: IC ₅₀ 0,008 µg/mL
TOMILLO / TIMOL					
Artículo	País	Tipo de estudio	Sustancias ensayadas	Resultados de citotoxicidad	Potencial virucida
Lelesius et al., 2019	Lituania	<i>In vitro</i> dosis-respuesta en células Vero Virus IBV	AE tomillo AE orégano (14 AEs más)	AE tomillo: efectos citotóxicos a 7,7 µg/mL. CC ₅₀ 0,63 µg/mL	<i>Sólo mostraron potencial en el tratamiento directo del virus antes de la entrada en las células y durante la infección, una vez que el virus está en el interior de la célula no resultan efectivos:</i>

				AE orégano: efectos citotóxicos a 7,7 µg/mL. CC ₅₀ 0,52 µg/mL	AE tomillo IC ₅₀ 0,010 µg/mL
Catella et al., 2021	Italia	<i>In vitro</i> en células CrFK Virus FIP (FCoV-II)	AE tomillo	AE tomillo: CC ₂₀ 27 µg/mL	<i>Establecieron que a 270 µg/mL destruyen la envoltura del virus y detienen la replicación del virus.</i>
Mediouni et al., 2020	USA	<i>In vitro</i> dosis-respuesta en líneas celulares T2M-bl Virus VIH-1	AE orégano y sus componentes aislados	Timol: CC ₅₀ > 500 µg/ml	<i>Con tratamiento pre y post inóculo, vieron que es más efectivo antes de la entrada del virus (actúa sobre la envoltura).</i> Timol: IC ₅₀ 25,2±4,9 µg/ml

- **Canela / Cinamaldehido**

Yeh et al., 2013, desarrollaron un estudio en líneas celulares del tracto respiratorio humano superior (HEp-2) e inferior (A549) frente al Virus Sincitial Respiratorio Humano (HRSV); virus con envoltura que forma placas en el aparato respiratorio superior y superior y que no tiene tratamiento terapéutico aprobado efectivo. Los autores compararon la actividad y la citotoxicidad de la canela y el ribavirin, mediante el cálculo de la IC₅₀ (concentración capaz de inhibir el 50% de un proceso biológico concreto) y la CC₅₀ (concentración citotóxica que causa el 50% de muerte celular). Los resultados mostraron que el aceite esencial de canela, a dosis de 300 µg/mL (muy inferior a la CC₅₀ 1936-2541 µg/mL), es capaz de inhibir la síntesis vírica de la proteína de fusión (F), asociada a la penetración del virus en las células y la formación de sincitios y placas en las vías respiratorias, lo que ocasiona neumonía. La eficacia del aceite era mayor si se empleaba tras la inoculación del virus en las líneas celulares.

Fátima et al., 2016, realizaron un estudio en células Vero con el virus de la Gripe aviar H7N3 (IFV-A H7:N3) utilizando nanopartículas de plata (AgNPs) con extracto acuoso de corteza de canela. La citotoxicidad (CC₅₀) del compuesto fue de 500 µg/mL, no encontrando efecto citopático a dosis inferiores (algo que ya apuntaban los estudios de Yeh et al., 2013 para el aceites esencial). Observaron que a dosis bajas (IC₅₀ 101 µg/mL) el tratamiento era más efectivo si se realizaba directamente sobre el inóculo, debido probablemente a la unión de las nanopartículas a las glicoproteínas de la envoltura vírica. A dosis más elevadas (IC₅₀ > 250 µg/mL) se lograba el mismo efecto aplicando el compuesto sobre células VERO ante- y post-infección, sugiriendo la difusión intracelular de las nanopartículas y la inhibición de la replicación vírica.

- **Clavo / Eugenol**

Astani et al., 2011, en sus trabajos con el herpes virus simple humano tipo 1 (HSV-1), demostraron que la exposición directa del virus a dosis no citotóxicas de eugenol (IC₅₀ 35 µg/mL) antes de la entrada en la célula inhibía la replicación vírica al 50%, si bien no determinan el mecanismo específico de acción. En el mismo estudio, el aceite esencial de anís estrellado y el β-cariopropileno lograron reducir la replicación vírica con dosis notablemente inferiores (IC₅₀ de 1 µg/mL y 0,25 µg/mL, respectivamente). En los tres casos, para inhibir al 99% la replicación vírica se precisaron concentraciones citotóxicas. El estudio se realizó utilizando como tratamiento de referencia el aciclovir, que mostró mejores resultados que las

sustancias naturales, tanto en el tratamiento directo del virus como al aplicarlo sobre la línea celular, antes y después de la infección vírica. No obstante, los autores destacaron el potencial de estas sustancias naturales como tratamiento alternativo para cepas aciclovir-resistentes.

- **Eucalipto / Eucaliptol**

El eucaliptol demostró en estudios *in vitro* su capacidad para alterar la membrana del virus de la Influenza aviar H1N1 (IFV-A H1N1) tras su cultivo en células de riñón canino Madin-Darby (MDCK) (Najar et al., 2021). No se comparó su potencia con otros fármacos o AE, pero se vio que era efectivo por debajo de 50 µg/mL, produciendo su efecto independientemente del momento de aplicación, por lo que puede afectar tanto a la envoltura del virus como a sus mecanismos de replicación.

Mediouni et al., 2020, evaluó su efecto en células T (TZM-bl) frente al virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), sin observar efecto virucida a dosis no citotóxicas ($IC_{50} > 500$ µg/mL).

- **Geranio / Geraniol**

Senthil Kumar et al., 2020, realizaron un estudio en líneas celulares de adenocarcinoma colorrectal humano (HT-29) para estudiar el efecto de los aceites esenciales de eucalipto geranio y limón en el bloqueo del receptor ACE2, utilizado por la proteína S del SARS-CoV-2 para acceder al interior de la célula. Los autores determinaron que la mayor inhibición sobre la proteína ACE2 lo ejerce el AE de geranio, ya que tras su aplicación a dosis de 50 µg/mL, la ACE2 sólo presenta un 10% de actividad. Los AE de limón y eucalipto resultaron mucho menos efectivos con la misma dosis.

- **Orégano / Carvacrol**

Mediouni et al., 2020, estudiaron el efecto de este AE y sus principales componentes frente al virus de la Inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) (Tabla 5).

El trabajo, realizado en cultivos de líneas celulares estables con expresión del gen galactosidasa (TZM-bl) bajo control del promotor del VIH, demostró una inhibición de la replicación vírica dosis dependiente. Los resultados hallados muestran una escasa citotoxicidad de todas las sustancias estudiadas excepto el carvacrol (CC_{50} de 277,8 µg/mL), si bien este compuesto logró inhibir la replicación vírica a dosis de 16 µg/mL, resultando

junto con el timol (25,2 µg/mL) los más efectivos. Se observó, asimismo, que la aplicación simultánea de estos dos principios potenciaba de forma sinérgica su efecto, reteniendo la replicación vírica sin afectar a la viabilidad de las células. La efectividad era mayor cuando se aplicaban directamente sobre el inóculo, por lo que debe tener más acción sobre la envoltura del virus que sobre los mecanismos de replicación.

Tabla 5. de Citotoxicidad los componentes del aceite esencial de orégano.

Compuesto	IC ₅₀ (µg/mL)	CC ₅₀ (µg/mL)
<i>Carvacrol</i>	16 ± 2,9	277,8 ± 9,3
<i>Timol</i>	25, 2± 4,9	>500
<i>Linalool</i>	89,4 ± 3,6	>500
<i>R-limoneno</i>	194,7 ± 19,4	>500
<i>α-pineno</i>	461,2 ± 68,6	>500
<i>β-cariopropileno</i>	>500	>500
<i>Eucaliptol</i>	>500	>500
<i>Para-cimeno</i>	>500	>500
<i>γ-terpeno</i>	>500	>500
<i>Myrceno</i>	>500	>500

Paralelamente, los autores del trabajo compararon el poder virucida del aceite esencial de orégano y un coctel de antirretrovirales (raltegravir, emtricitabine y tenofovir) frente a los virus de la Inmunodeficiencia de los simios (SIV), Gripe A (H1N1), Zikavirus (ZIKV) cepa brasileña y adenovirus 5 (ADV5), en cultivos de células T CD4 de macaco Rhesus. El estudio demostró la efectividad *in vitro* del aceite de orégano frente al virus de la Inmunodeficiencia de los simios (SIV), mediante inhibición de la replicación, si bien en ningún caso fue superior a la de los retrovirales. No se observaron resultados para los otros virus ensayados.

▪ Tomillo / Timol

Lelesius et al., 2019, compararon la actividad *in vitro* de 15 extractos de plantas (destacando el AE de tomillo y orégano), contra el virus de la Bronquitis infecciosa aviar (IBV) mL en células Vero. Todos los compuestos inhibieron la replicación vírica al aplicarse directamente sobre el virus, antes de la entrada en las células, o durante la infección; una vez que el virus estaba en el interior de la célula no resultaron efectivos.

En el caso del AE de orégano, la inhibición (IC₅₀) se produjo a dosis de 0,008 µg/mL (x0.5 CC₅₀), mientras que el AE de tomillo lograba el mismo efecto a concentraciones de 0,010 µg/mL (x0.25 CC₅₀). Todos los compuestos resultaron citotóxicos a una concentración de 7,7 µg/mL.

Catella et al., 2021, estudiaron el efecto del AE de tomillo frente al coronavirus felino (FCoV-II, agente causal de la Peritonitis infecciosa felina) en células CrFK, considerando que esta especie podría constituir una referencia en el estudio de la COVID-19, dada su susceptibilidad al SARS-CoV-2. Los hallazgos mostraron la inhibición del virus a concentraciones > 270 µg/mL, dosis muy superior a la CC₂₀ (27 µg/mL); a partir de la CC₂₀ ya se observaban efectos sobre la replicación del virus.

Estudios *in vivo*

Jackwood et al., 2010 (ensayo clínico), demostraron que el tratamiento de los pollos de engorde con una emulsión líquida comercial a base de oleoresinas y aceites esenciales, entre los que se incluía la **pimienta negra** (QR448a® Quigley Pharma S.L.), resultó crucial para frenar la infección por el virus de la Bronquitis infecciosa aviar (Gamma-coronavirus), reducir los síntomas de enfermedad en las aves y reducir la duración de la fase cínica.

La **EudraCT** (European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials Data Base) es la base de datos europea para ensayos clínicos en productos medicinales autorizados en la unión Europea y fuera de ella, si forman parte del Plan de Investigación pediátrica (PIP) (Paediatric Investigation Plan). Desde septiembre de 2011 da publicidad a los protocolos y resultados de los ensayos clínicos a través de European Union Clinical Trial Register (<https://www.clinicaltrialsregister.eu/ctr-search/search>).

Para la búsqueda de “*essential oils*” sólo muestra 5 ensayos con protocolo, destacando un estudio que compara la seguridad y eficacia de preparaciones tópicas para la erradicación de *Staphylococcus aureus* meticilina resistentes (MRSA) con una preparación específica de aceites esenciales en pacientes de cirugía oncológica. Varias vías: enjuague bucal, gel nasal, líquido para inhalación y una emulsión cutánea; estudio de una duración prevista de 3 años. Pacientes: personas con infección por MRSA, 110 pacientes, terminado 30-11-2009. Los resultados no se han hecho públicos.

2.3. Discusión

Como indicamos en la introducción de este TFM, no existe hasta la fecha un tratamiento unificado frente al SARS-CoV-2, promoviéndose desde las autoridades sanitarias la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. Los aceites esenciales, utilizados de forma empírica desde la Antigüedad, han demostrado propiedades virucidas frente a numerosos virus de interés en salud pública y veterinaria, por lo que en base a los resultados de esta revisión sistemática, consideramos que los aceites esenciales podrían utilizarse en la lucha de esta enfermedad desde los siguientes enfoques:

Tratamiento etiológico. En base a los resultados de los ensayos *in silico*, diversos compuestos derivados de los aceites esenciales (eugenol, carvacrol, cinamaldehído y timol) podrían ser eficaces en el tratamiento de los sujetos infectados mediante diversos mecanismos de acción (inhibición de la proteasa MPro, unión a la proteína N, bloqueo de la ARN-polimerasa vírica, unión a los lipolisacáridos o liberación de citoquinas inflamatorias). Aunque prometedores, debemos recordar que este tipo de estudios cuentan con dos grandes limitaciones: 1) dependen del desarrollo de un software adaptado y todos se hacen en base a los datos de IC₅₀ que toman directamente de los ensayos *in vitro* de otros autores, por lo que dependen de la calidad y disponibilidad de los datos externos y 2) se desarrollan en condiciones perfectas, siendo complicado añadir al software todos los factores biológicos que pueden alterar la unión de las moléculas a la membrana del coronavirus (procesos metabólicos que se dan de forma natural en los seres vivos) (Narkhede et al., 2020). Además, cuentan con la limitación de que sólo se pueden utilizar componentes individualizados de los Aes. No obstante, sus resultados son de gran interés para el desarrollo de la fase experimental, centrada actualmente en la administración de sustancias mediante nanopartículas de plata (AgNPs, Plant-based silver nanoparticles). Éstas constituyen una nueva fuente de agentes antivirales por su mecanismo de acción multiobjetivo y su rápida difusión intracelular, lo que permite disminuir la toxicidad y tener una gran difusión por los tejidos (Fátima et al., 2016).

Tradicionalmente, el diseño de los ensayos clínicos *in vivo* conlleva numerosos estudios previos sobre la citotoxicidad y la actividad *in vitro* de la sustancia problema frente al patógeno de interés. En el caso del SARS-CoV-2, la búsqueda realizada para este TFM no ha mostrado ningún resultado de calidad, si bien, se ha podido constatar el potencial virucida de los aceites esenciales de canela, clavo, eucalipto, geranio, orégano y tomillo y de sus principios activos, al aplicarse directamente sobre otros virus con envoltura o sobre la célula diana no infectada. Sin embargo, y a diferencia de los antivirales habitualmente utilizados, algunas de sustancias presentan citotoxicidad a dosis relativamente próximas a la

concentración eficaz, resultando fundamentales para su uso en humana las pruebas de toxicidad aguda a dosis única, basadas en el estudio cuali-cuantitativo de los fenómenos tóxicos y de su aparición en función del tiempo tras la administración de una dosis única o de varias dosis fraccionadas en el transcurso de 24 horas (Guía para pruebas de toxicidad aguda oral con químicos de la Organización para la cooperación económica y el Desarrollo, OCED, 2008).

La mayoría de las pruebas realizadas con AE o sus principios activos han mostrado una toxicidad aguda oral en ratas baja, con dosis letales 50 (DL50) inferiores a 2000 mg/kg, valor límite establecido por la OCED para los estudios de toxicidad. En el caso del carvacrol y timol, principales componentes de los AE de orégano y tomillo, la DL50 en ratas es de 1000 mg/kg y 980 mg/kg, respectivamente (Suntres et al., 2015). De igual modo, los estudios de toxicidad subcrónica con AE de orégano, basados en la administración oral durante 90 días de 50-200 mg/kg, no revelaron mortalidad ni efectos adversos (Llana-Ruiz-Cabello et al., 2017).

No obstante, los AE de canela y clavo ingeridos en dosis altas por vía oral pueden ocasionar cuadros de depresión generalizada en el SNC. Igualmente, se han descrito efectos de somnolencia con dosis elevadas de AE de orégano y efectos narcóticos y estupefacientes con el AE de tomillo, siendo el timol el compuesto fenólico responsable de dichos efectos (Madeira et al., 2002).

Por su parte, la exposición de células Vero durante 24 h a dosis seriadas de 50 µg/mL a 1000 µg/mL, mostró una menor citotoxicidad e inducción de muerte celular con el AE de tomillo (concentración máxima no tóxica 200 µg/mL) que con canela, clavo y orégano (50 µg/mL) (Fabio et al., 2007). Sin embargo, los ensayos de Dušan et al. (2006) con células intestinales (Caco-2) refieren para estos aceites una toxicidad nula o muy leve a dosis de 100 µg/mL, de forma que estas lesiones podrían ser autoeliminadas mediante la apoptosis celular. Al probar la dosis de 500 µg/mL, estos autores describen un incremento significativo de la necrosis celular.

En este sentido, es fundamental recordar que un mismo aceite esencial puede presentar, en función de múltiples factores, notables variaciones en su composición y, en consecuencia en su toxicidad y efectos adversos. Debido a ello, resulta difícil extrapolar los resultados obtenidos por otros autores (Burt et al., 2004).

Profilaxis (desinfección de superficies y medioambiente). Dada la naturaleza volátil y la capacidad de algunos aceites esenciales (canela, eucalipto, geranio, orégano y tomillo) para actuar sobre la membrana lipídica de los virus o inhibir la síntesis de la proteína F,

bloqueando su entrada en la célula, podrían constituir una alternativa eficaz para la desinfección del aire y de superficies.

En bacteriología, los estudios desarrollados por Sengun et al. (2021) con una mezcla de orégano, canela y clavo ya han demostrado su eficacia como desinfectantes frente a microorganismos aerobios mesófilos, pero no existen estudios sobre el efecto virucida de los AEs en superficies y medio ambiente.

Finalmente y aunque no era el objeto de este trabajo, queremos destacar la notable actividad antiinflamatoria e inmunomoduladora descrita para algunos aceites esenciales. Así, los estudios clínicos realizados por Juergens et al. (2020) en pacientes con rinosinusitis, tratados durante una semana con cápsulas de 100 mg de eucaliptol, mostraron una reducción de la liberación de citoquinas proinflamatorias de monocitos y macrófagos, sin alterar la función fagocitaria, lo que se tradujo en una disminución significativa de la sintomatología y la producción de moco, así como en una variación del tipo de leucinas liberadas, con respecto al grupo control.

En el caso de la COVID-19, diversos estudios *in silico* han señalado la posible actividad antiinflamatoria del mentol, carvacrol y eugenol (da Silva et al., 2020), lo que supondría una ventaja añadida sobre los antivirales tradicionales, si bien son precisos estudios *in vivo* más exhaustivos para proponer su utilización con este fin.

La revisión sistemática realizada nos ha permitido identificar numerosos grupos de investigación sobre esta materia en todo el mundo, destacando: China, India, países de Oriente Medio, Brasil y Europa (con Italia y España a la cabeza) (ANEXO 2). Aunque están aún en fases muy tempranas de los ensayos clínicos.

Limitaciones del TFM

Las principales limitaciones encontradas en el desarrollo de este trabajo han sido:

- Sesgo de publicación: no se publican artículos con resultados desfavorables, por lo que casi todos los estudios incluidos apoyaban la hipótesis de partida.
- Dificultad para acceder a algunos artículos más novedosos al ser de pago.
- Sesgo de selección: siempre es posible cierta subjetividad, aunque la aplicación de criterios de inclusión y exclusión basados en la calidad y lectura crítica de los artículos minimizan bastante este riesgo.

Encontramos, además, que los autores asiáticos se citan mucho entre ellos, por lo que sus publicaciones cuentan con gran cantidad de citas aunque no aporten nueva información, debiendo ser muy meticulosos al seleccionar estos artículos.

- No se encontraron estudios *in vitro* e *in vivo* frente al SARS-COV-2, lo que limita la validez externa de los resultados obtenidos para otros virus.

Conclusiones

Ante la pregunta científica planteada para el desarrollo de esta revisión sistemática, “¿podrían utilizarse los aceites esenciales o sus principios activos en el tratamiento etiológico y la prevención de la COVID-19?”, podemos concluir:

1. En base a los resultados de los estudios *in silico*, que tanto los aceites esenciales de canela, clavo, eucalipto, geranio, orégano y tomillo como sus principios activos podrían constituir una alternativa eficaz a los antivirales tradicionales en el tratamiento de los sujetos infectados por SARS-CoV-2, sobre todo en la fase previa a la entrada en las células, si bien son precisos estudios *in vitro* e *in vivo* más específicos sobre su eficacia, mecanismos de acción y toxicidad. Se recomendaría su administración en nanopartículas para disminuir los efectos adversos y aumentar su difusión a nivel de tejidos.
2. En base a la naturaleza volátil de los aceites esenciales y su probada actividad frente a otros virus con envoltura, podrían utilizarse como medida preventiva en la desinfección de ambientes y superficies.

Por todo ello, y a la espera de la confirmación científica, consideramos que los aceites esenciales podrían constituir una herramienta de apoyo en la lucha frente a la COVID-19, por cuanto podrían ayudar a disminuir la carga viral en pacientes y medio ambiente, sin olvidar sus conocidas propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras.

Conclusions

Given the scientific question posed for the development of this systematic review, "could essential oils or their active principles be used in the etiologic treatment and prevention of COVID-19?", We can conclude:

1. Based on the results of *in silico* studies, that both the essential oils of cinnamon, clove, eucalyptus, geranium, oregano and thyme as their active principles could constitute an effective alternative to traditional antivirals in the treatment of infected subjects by SARS-CoV-2, especially in the phase prior to entry into cells, although more specific *in vitro* and *in vivo* studies on its efficacy, mechanisms of action and toxicity are required. Its administration in nanoparticles would be recommended to reduce adverse effects and increase its diffusion at the tissue level.
2. Based on the volatile nature of essential oils and their proven activity against other enveloped viruses, they could be used as a preventive measure in the disinfection of environments and surfaces.

Therefore, and pending scientific confirmation, we consider that essential oils could constitute a support tool in the fight against COVID-19, as they could help reduce the viral load in patients and the environment, without forgetting its known anti-inflammatory and immunomodulatory properties.

Bibliografía

- Astani, A., Reichling, J., & Schnitzler, P. (2011). Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2011, 253643. <https://doi.org/10.1093/ecam/nep187>
- Asif, M., Saleem, M., Saadullah, M., Yaseen, H. S., y Al Zarzour, R. (2020). COVID-19 and therapy with essential oils having antiviral, anti-inflammatory, and immunomodulatory properties. *Inflammopharmacology*, 28 (5), 1153–1161. DOI: 10.1007/s10787-020-00744-0
- Boukhatem, M. N. y Setzer, W. N. (2020). Aromatic Herbs, Medicinal Plant-Derived Essential Oils, and Phytochemical Extracts as Potential Therapies for Coronaviruses: Future Perspectives. *Plants-Basel*, 9 (6), 800. DOI: 10.3390/plants9060800
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253.
- Catella, C., Camero, M., Lucente, M. S., Fracchiolla, G., Sblano, S., Tempesta, M., Martella, V., Buonavoglia, C., & Lanave, G. (2021). Virucidal and antiviral effects of *Thymus vulgaris* essential oil on feline coronavirus. *Research in veterinary science*, 137, 44–47. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.04.024>
- Colalto, C. (2020). Volatile molecules for COVID-19: A possible pharmacological strategy? *Drug Development Research*, 81 (8), 950–968. DOI: 10.1002/ddr.21716
- Choudhary, P., Chakdar, H., Singh, D., Selvaraj, C., Singh, S. K., Kumar, S. y Saxena, A. K. (2020). Computational studies reveal piperine, the predominant oleoresin of black pepper (*Piper nigrum*) as a potential inhibitor of SARS-CoV-2 (COVID-19). *Current science*, 119 (8), 1333-1342. DOI: 10.18520/cs/v119/i8/1333-1342
- da Silva J. K. R., Figueiredo P. L. B., Byler K. G. y Setzer W. N. (2020). Essential Oils as Antiviral Agents, Potential of Essential Oils to Treat SARS-CoV-2 Infection: An In-Silico Investigation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (10), 3426. DOI: 10.3390/ijms21103426
- Decaro, N., & Lorusso, A. (2020). Novel human coronavirus (SARS-CoV-2): A lesson from animal coronaviruses. *Veterinary microbiology*, 244, 108693. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108693>

- Deyno, S., Mtewa, A. G., Abebe, A., Hymete, A., Makonnen, E., Bazira, J., & Alele, P. E. (2019). Essential oils as topical anti-infective agents: A systematic review and meta-analysis. *Complementary therapies in medicine*, 47, 102224. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2019.102224>
- Diaz-Sanchez, S., D'Souza, D., Biswas, D., & Hanning, I. (2015). Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Poultry science*, 94(6), 1419–1430. <https://doi.org/10.3382/ps/pev014>
- Dušan, F., Marián, S., Katarína, D., & Dobroslava, B. (2006). Essential oils—their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicology In Vitro*, 20(8), 1435-1445.
- Elfiky A. A. (2021). SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase (RdRp) targeting: an *in silico* perspective. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 39(9), 3204–3212. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1761882>
- Fabio, A., Cermelli, C., Fabio, G., Nicoletti, P., & Quaglio, P. (2007). Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections. *Phytotherapy Research*, 21(4), 374-377.
- Fatima, M., Zaidi, N. U., Amraiz, D., & Afzal, F. (2016). In Vitro Antiviral Activity of Cinnamomum cassia and Its Nanoparticles Against H7N3 Influenza A Virus. *Journal of microbiology and biotechnology*, 26(1), 151–159. <https://doi.org/10.4014/jmb.1508.08024>
- Gao, Y., Yan, L., Huang, Y., Liu, F., Zhao, Y., Cao, L., Wang, T., Sun, Q., Ming, Z., Zhang, L., Ge, J., Zheng, L., Zhang, Y., Wang, H., Zhu, Y., Zhu, C., Hu, T., Hua, T., Zhang, B., Yang, X., ... Rao, Z. (2020). Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science (New York, N.Y.)*, 368(6492), 779–782. <https://doi.org/10.1126/science.abb7498>
- Hensel, A., Bauer, R., Heinrich, M., Spiegler, V., Kayser, O., Hempel, G. y Kraft, K. (2020). Challenges at the Time of COVID-19: Opportunities and Innovations in Antivirals from Nature. *Planta Medica*, 86 (10), 659-664. DOI: 10.1055/a-1177-4396
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Schiergens, T. S., Herrler, G., Wu, N. H., Nitsche, A., Müller, M. A., Drosten, C., & Pöhlmann, S. (2020). SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and

- Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>
- Jackwood, M. W., Rosenbloom, R., Petteruti, M., Hilt, D. A., McCall, A. W. y Williams, S. M. (2010). Avian coronavirus infectious bronchitis virus susceptibility to botanical oleoresins and essential oils in vitro and in vivo. *Virus Research*, 149 (1), 86-94. DOI: 10.1016/j.virusres.2010.01.006.
- Jakhetia, V., Patel, R., Khatri, P., Pahuja, N., Garg, S., Pandey, A., & Sharma, S. (2010). Cinnamon: a pharmacological review. *Journal of Advanced Scientific Research*, 1(2), 19-23.
- Juergens, L. J., Worth, H., & Juergens, U. R. (2020). New Perspectives for Mucolytic, Anti-inflammatory and Adjunctive Therapy with 1,8-Cineole in COPD and Asthma: Review on the New Therapeutic Approach. *Advances in therapy*, 37(5), 1737–1753. <https://doi.org/10.1007/s12325-020-01279-0>
- Junior, A. G., Tolouei, S., Dos Reis Lívero, F. A., Gasparotto, F., Boeing, T., & de Souza, P. (2021). Natural Agents Modulating ACE-2: A Review of Compounds with Potential against SARS-CoV-2 Infections. *Current pharmaceutical design*, 27(13), 1588–1596. <https://doi.org/10.2174/1381612827666210114150607>
- Kaur, M., Devi, G., Nagpal, M., Singh, M., Dhingra, G. A. y Aggarwal, G. (2020). Antiviral Essential Oils Incorporated in Nanocarriers: Strategy for Prevention from COVID-19 and Future Infectious Pandemics. *Pharmaceutical Nanotechnology*, 8 (6), 437-451. DOI: 10.2174/2211738508666201016151850
- Kulkarni, S. A., Nagarajan, S. K., Ramesh, V., Palaniyandi, V., Selvam, S. P., & Madhavan, T. (2020). Computational evaluation of major components from plant essential oils as potent inhibitors of SARS-CoV-2 spike protein. *Journal of molecular structure*, 1221, 128823.
- Kumar, A., Prasoon, P., Kumari, C., Pareek, V., Faiq, M. A., Narayan, R. K., Kulandhasamy, M., & Kant, K. (2021). SARS-CoV-2-specific virulence factors in COVID-19. *Journal of medical virology*, 93(3), 1343–1350. <https://doi.org/10.1002/jmv.26615>
- Langeveld, W. T., Veldhuizen, E. J., & Burt, S. A. (2014). Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Critical reviews in microbiology*, 40(1), 76–94. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763219>

- Lelešius, R., Karpovaitė, A., Mickienė, R., Drevinskas, T., Tiso, N., Ragažinskienė, O., Kubilienė, L., Maruška, A., & Šalomska, A. (2019). In vitro antiviral activity of fifteen plant extracts against avian infectious bronchitis virus. *BMC veterinary research*, 15(1), 178. <https://doi.org/10.1186/s12917-019-1925-6>
- Leyva-López, N., Gutiérrez-Grijalva, E. P., Vazquez-Olivo, G., & Heredia, J. B. (2017). Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond Their Antimicrobial Properties. *Molecules* (Basel, Switzerland), 22(6), 989. <https://doi.org/10.3390/molecules22060989>
- Llana-Ruiz-Cabello, M., Maisanaba, S., Puerto, M., Pichardo, S., Jos, A., Moyano, R., & Cameán, A. M. (2017). A subchronic 90-day oral toxicity study of *Origanum vulgare* essential oil in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 101, 36-47.
- Lorenzi, V., Muselli, A., Bernardini, A. F., Berti, L., Pagès, J. M., Amaral, L., & Bolla, J. M. (2009). Geraniol restores antibiotic activities against multidrug-resistant isolates from gram-negative species. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(5), 2209–2211. <https://doi.org/10.1128/AAC.00919-08>
- Ma L, Yao L. Antiviral Effects of Plant-Derived Essential Oils and Their Components: An Updated Review. *Molecules*. 2020; 25(11):2627. <https://doi.org/10.3390/molecules25112627>
- Madeira, S. V., Matos, F. J. A., Leal-Cardoso, J. H., & Criddle, D. N. (2002). Relaxant effects of the essential oil of *Ocimum gratissimum* on isolated ileum of the guinea pig. *Journal of Ethnopharmacology*, 81(1), 1-4.
- Mani, J. S., Johnson, J. B., Steel, J. C., Broszczak, D. A., Neilsen, P. M., Walsh, K. B. y Naiker, M. (2020). Natural product-derived phytochemicals as potential agents against coronaviruses: A review. *Virus Research*, 284, 197989. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.197989
- McCord, J. M., Hybertson, B. M., Cota-Gomez, A., Geraci, K. P., & Gao, B. (2020). Nrf2 Activator PB125[®] as a Potential Therapeutic Agent against COVID-19. *Antioxidants* (Basel, Switzerland), 9(6), 518. <https://doi.org/10.3390/antiox9060518>
- Mediouni, S., Jablonski, J. A., Tsuda, S., Barsamian, A., Kessing, C., Richard, A., Biswas, A., Toledo, F., Andrade, V. M., Even, Y., Stevenson, M., Tellinghuisen, T., Choe, H., Cameron, M., Bannister, T. D., & Valente, S. T. (2020). Oregano Oil and Its Principal

- Component, Carvacrol, Inhibit HIV-1 Fusion into Target Cells. *Journal of virology*, 94(15), e00147-20. <https://doi.org/10.1128/JVI.00147-20>
- Muñoz Guajardo I. y Salas Valero M. (2011). Cómo buscar (y encontrar) evidencia científica en salud: el planteamiento de la búsqueda. *Nure Investigación* (55). Fuente: fcsalud.ua.es
- Najar, B., Nardi, V., Stincarelli, M. A., Patrissi, S., Pistelli, L., & Giannecchini, S. (2021). Screening of the essential oil effects on human H1N1 influenza virus infection: an *in vitro* study in MDCK cells. *Natural product research*, 1–4. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/14786419.2021.1944137>
- Narkhede, R. R., Pise, A. V., Cheke, R. S., y Shinde, S. D. (2020). Recognition of Natural Products as Potential Inhibitors of COVID-19 Main Protease (Mpro): In-Silico Evidences. *Natural Products and Bioprospecting*, 10 (5), 297-306. DOI: 10.1007/s13659-020-00253-1
- [OCED] Organisation for Economic Cooperation and Development. (2008): Guideline for Testing of Chemicals. Acute Oral Toxicity – Up-and-down-procedure (UDP), *Guideline*, Chapter 425, 1-27.
- Prall, S., Bowles, E. J., Bennett, K., Cooke, C. G., Agnew, T., Steel, A., Hausser, T. (2020). Effects of essential oils on symptoms and course (duration and severity) of viral respiratory infections in humans: A rapid review. *Advances in Integrative Medicine*, 7 (4), 218-221. DOI: 10.1016/j.aimed.2020.07.005
- Rajendran DK, Rajagopal V, Alagumanian S, Santhosh Kumar T, Sathiya Prabhakaran SP, Kasilingam D. Systematic literature review on novel corona virus SARS-CoV-2: a threat to human era. *Virusdisease*. 2020 Jun;31(2):161-173. doi: 10.1007/s13337-020-00604-z. Epub 2020 Jun 11. PMID: 32656310; PMCID: PMC7288266.
- Sampangi RV, Sampalli S. Butterfly Encryption Scheme for Resource-Constrained Wireless Networks. *Sensors (Basel)*. 2015 Sep 15;15(9):23145-67. doi: 10.3390/s150923145. PMID: 26389899; PMCID: PMC4610504.
- Sengun, I. Y., Senturk, S., Gul, S., & Kilic, G. (2021). Potential of essential oil combinations for surface and air disinfection. *Letters in applied microbiology*, 72(5), 526–534. <https://doi.org/10.1111/lam.13445>
- Senthil Kumar, K. J., Gokila Vani, M., Wang, C. S., Chen, C. C., Chen, Y. C., Lu, L. P., Huang, C. H., Lai, C. S., & Wang, S. Y. (2020). Geranium and Lemon Essential Oils

- and Their Active Compounds Downregulate Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2), a SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain, in Epithelial Cells. *Plants (Basel, Switzerland)*, 9(6), 770. <https://doi.org/10.3390/plants9060770>
- Sharma AD, Kaur I (2020a) Jensenone from eucalyptus essential oil as a potential inhibitor of COVID 19 corona virus infection. *Research & Reviews in Biotechnology & Biosciences*, 7:59–66
- Shereen, M. A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., & Siddique, R. (2020). COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal of advanced research*, 24, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.03.005>
- Silveira, D., Prieto-Garcia, J. M., Boylan, F., Estrada, O., Fonseca-Bazzo, Y. M., Jamal, C. M., Magalhaes, P. O., Pereira, E. O., Tomczyk, M. y Heinrich, M. (2020). COVID-19: Is There Evidence for the Use of Herbal Medicines as Adjuvant Symptomatic Therapy? *Frontiers in Pharmacology*, 11, 581840. DOI: 10.3389/fphar.2020.581840
- Stathis, C., Victoria, N., Loomis, K., Nguyen, S. A., Eggers, M., Septimus, E. y Safdar, N. (2021). Review of the use of nasal and oral antiseptics during a global pandemic. *Future Microbiology*, 16 (2), 119-130. DOI: 10.2217/fmb-2020-0286
- Suntres, Z. E., Coccimiglio, J., & Alipour, M. (2015). The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(3), 304-318.
- Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., Shalla, A. H., & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial pathogenesis*, 134, 103580. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103580>
- Thuy, B., My, T., Hai, N., Hieu, L. T., Hoa, T. T., Thi Phuong Loan, H., Triet, N. T., Anh, T., Quy, P. T., Tat, P. V., Hue, N. V., Quang, D. T., Trung, N. T., Tung, V. T., Huynh, L. K., & Nhung, N. (2020). Investigation into SARS-CoV-2 Resistance of Compounds in Garlic Essential Oil. *ACS omega*, 5(14), 8312–8320. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00772>
- Ulasli, M., Gurses, S. A., Bayraktar, R., Yumrutas, O., Oztuzcu, S., Igci, M., Igci, Y. Z., Cakmak, E. A. y Arslan, A. (2014). The effects of *Nigella sativa* (Ns), *Anthemis hyalina* (Ah) and *Citrus sinensis* (Cs) extracts on the replication of coronavirus and the

- expression of TRP genes family. *Molecular Biology Reports*, 41 (3), 1703-1711. DOI: 10.1007/s11033-014-3019-7
- Ultee, A., Bennik, M. H. J., & Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1561-1568
- Valdivieso-Ugarte, M., Gomez-Llorente, C., Plaza-Díaz, J., & Gil, Á. (2019). Antimicrobial, Antioxidant, and Immunomodulatory Properties of Essential Oils: A Systematic Review. *Nutrients*, 11(11), 2786. <https://doi.org/10.3390/nu11112786>
- Valencia DN (2020) Brief review on COVID-19: the 2020 pandemic caused by SARS-CoV-2. *Cureus* 12:e7386
- Wang, M., Cao, R., Zhang, L., Yang, X., Liu, J., Xu, M., Shi, Z., Hu, Z., Zhong, W., & Xiao, G. (2020). Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell research*, 30(3), 269–271. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-0282-0>
- Wani, A. R., Yadav, K., Khursheed, A., & Rather, M. A. (2021). An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. *Microbial pathogenesis*, 152, 104620. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104620>
- Wink, M. (2020). Potential of DNA intercalating alkaloids and other plant secondary metabolites against SARS-CoV-2 causing COVID-19. *Diversity*, 12 (5), 175. DOI: 10.3390/d12050175
- Wilkin, P. J., Al-Yozbaki, M., George, A., Gupta, G. K., & Wilson, C. M. (2020). The Undiscovered Potential of Essential Oils for Treating SARS-CoV-2 (COVID-19). *Current pharmaceutical design*, 26(41), 5261–5277. <https://doi.org/10.2174/1381612826666201015154611>
- Yeh, C. F., Chang, J. S., Wang, K. C., Shieh, D. E., & Chiang, L. C. (2013). Water extract of *Cinnamomum cassia* Blume inhibited human respiratory syncytial virus by preventing viral attachment, internalization, and syncytium formation. *Journal of ethnopharmacology*, 147(2), 321–326.

- Yesudhas, D., Srivastava, A., & Gromiha, M. M. (2021). COVID-19 outbreak: history, mechanism, transmission, structural studies and therapeutics. *Infection*, *49*(2), 199–213. <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01516-2>
- Zhang, D., Zhang, B., Lv, J. T., Sa, R. N., Zhang, X. M. y Lin, Z. J. (2020) The clinical benefits of Chinese patent medicines against COVID-19 based on current evidence. *Pharmacological Research*, *157*, 104882. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104882 (a)
- Zhang, X. R., Li, T. N., Ren, Y. Y., Zeng, Y. J., Lv, H. Y., Wang, J., y Huang, Q. W. (2020). The Important Role of Volatile Components From a Traditional Chinese Medicine Dayuan-Yin Against the COVID-19 Pandemic. *Frontiers in pharmacology*, *11*, 583651. DOI: 10.3389/fphar.2020.583651 (b)

Anexo 1. Plantilla de lectura crítica CASPE

A) LOS RESULTADOS DE LA REVISIÓN SON VÁLIDOS			
<i>Preguntas de eliminación</i>			
1. ¿Se hizo la revisión sobre un tema claramente definido?	S	N	NS
2. ¿Buscaron los autores el tipo de artículos adecuados?	S	N	NS
<i>¿Merece la pena continuar?</i>			
<i>Preguntas detalladas</i>			
3. ¿Crees que estaban incluidos los estudios importantes y pertinentes?	S	N	NS
4. ¿Crees que los autores han hecho suficiente esfuerzo para valorar la calidad de los estudios incluidos?	S	N	NS
5. Si se han combinado resultados de diferentes estudios, ¿era razonable hacerlo?	S	N	NS
B) ¿CUÁLES SON LOS RESULTADOS?			
6. ¿Cuál es el resultado global de la revisión?	S	N	NS
7. ¿Cuál es la precisión del resultado?	S	N	NS
C) ¿SON LOS RESULTADOS APLICABLES A MI TRABAJO?			
8. ¿Se pueden aplicar los resultados a mi trabajo?	S	N	NS
9. ¿Se han considerado todos los resultados importantes para emitir las conclusiones?	S	N	NS
10. ¿Los beneficios merecen la pena frente a los perjuicios y costes?	S	N	NS
<i>Puntuación Total</i>			

*Plantilla empleada para las revisiones.

A) LOS RESULTADOS DEL ENSAYO SON VÁLIDOS			
<i>Preguntas de eliminación</i>			
1. ¿Se orienta el ensayo a una pregunta claramente definida?	S	N	NS
2. ¿Fue aleatoria la asignación de los pacientes?	S	N	NS
3. ¿Se consideraron correctamente todos los pacientes hasta el final del estudio?	S	N	NS
<u>¿Merece la pena continuar?</u>			
<i>Preguntas detalladas</i>			
4. ¿Los pacientes conocían su tratamiento?	S	N	NS
5. ¿Hubo variaciones en los individuos sometidos a estudio?	S	N	NS
6. Al margen de la intervención, ¿los grupos se trataron de igual manera?	S	N	NS
B) ¿CUÁLES SON LOS RESULTADOS?			
7. ¿Fue muy grande el resultado del ensayo?	S	N	NS
8. ¿Cuál es la precisión del resultado?	S	N	NS
C) ¿SON LOS RESULTADOS APLICABLES A MI TRABAJO?			
9. ¿Se pueden aplicar los resultados a mi trabajo?	S	N	NS
10. ¿Se han considerado todos los resultados importantes para emitir las conclusiones?	S	N	NS
11. ¿Los beneficios merecen la pena frente a los riesgos y costes?	S	N	NS
<i>Puntuación Total</i>			

*Plantilla empleada con el ensayo clínico y los estudios *in vitro*.

Anexo 2. Relación de grupos de investigación que trabajan en este campo.

EXTRANJEROS

Colalto, Cristiano	Italian Pharmacological Society, Milan, Italy, Via Giovanni Pascoli 3, Milan 20129, Italy. Email: cristiano.colalto@gmail.com	Working Group “Pharmacognosy, Phytotherapy and Nutraceuticals”; buscando alternativas medicamentosas para el tratamiento del COVID.
Boukhatem, Mohamed Nadjib	Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université - Saad Dahlab - Blida 1, Blida, Algeria, Tel: 213664983174. Email: mn.boukhatem@yahoo.fr	Línea de trabajo con aceites esenciales y su acción sobre los coronavirus.
HUANG, Qin Wan	Chengdu University of Traditional Chinese Medicine. Chengdu, China. Sin email verificado	Programs Foundation for Leading Talents in State Administration of Traditional Chinese Medicine of China; "Qihuang scholars" Project; National Natural Science Foundation of China (NSFC); desarrollando estudios para poner en valor la medicina tradicional China frente al COVID.
WANI, Abdul Rouf	Madhyanchal Professional University. Bhabhada Road, Ratibad, Madhya Pradesh 462044, India. Teléfono: +91 755 289 6281 Sin email verificado.	Uso de productos naturales frente a la enfermedad.

NACIONALES

Luis Enjuanes (CSIC)	Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) Dirección: Campus Univ. Autónoma. Cantoblanco. 28049 Madrid. Tlf: +34 91 585 4555 Email: ljenjuanes@cnb.csic.es	Coronavirus: mecanismos de replicación, transcripción e interacción con el hospedador. Diseño de vacunas
Mayte Coiras (ISCIII)	Instituto de Salud Carlos III C/ Sinesio Delgado, 4 28029 – Madrid. Teléfonos: 91 822 21 00 y 91 822 24 60. Correo electrónico: oficina.informacion@isciii.es	Grupo de Análisis Científico de Coronavirus del Instituto de Salud Carlos III.