

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CITOTOXICIDADE DE *Origanum vulgare* L. E *Rosmarinus officinalis* L.

BLANK, Daiane Einhardt ¹;
ALVES, Gabriela Hörnke ²;
FREITAG, Rogério Antônio ³;
CORRÊA, Rayra Almeida ⁴;
HÜBNER, Silvia de Oliveira ⁵;
CLEFF, Marlete Brum ⁵.

Recebido: 02/11/2015

Aceito: 03/08/2016

¹Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, FURG; ²Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFPEL; ³Professor Doutor, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, UFPEL; ⁴Mestranda, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS; ⁵Professora Doutora, Faculdade de Veterinária, UFPEL.

RESUMO

Levando em consideração o potencial antimicrobiano de produtos naturais, o presente estudo teve como objetivo estudar a composição química e citotoxicidade de óleos essenciais e extratos aquoso e etanólico de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis*. A identificação química dos óleos essenciais foi realizada por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC/FID) e dos extratos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A citotoxicidade foi medida pelo método do MTT nas linhagens celulares MBDK, RK13, MDCK e CRFK. Os principais compostos detectados nos óleos de *O. vulgare*, foram α -terpineno, γ -terpineno, linalol, 4-terpineol e timol, enquanto no óleo de *R. officinalis* foram α -pineno, canfeno, 1,8-cineol e cânfora. Nos extratos aquoso e etanólico foram encontrados ácido rosmarínico, ácido luteolina, canferol, apigenina e quercetina. As análises demonstraram maior citotoxicidade nos óleos essenciais, seguida pelos extratos etanólicos, tanto de *O. vulgare* como de *R. officinalis*, embora também dependente da linhagem celular. Os resultados sugerem que os compostos α -terpineno, γ -terpineno, linalol, 4-terpineol e timol, presentes no óleo essencial do *O. vulgare*, assim como α -pineno, canfeno, 1,8-cineol e cânfora, presentes no óleo essencial de *R. officinalis*, possuem maior potencial de citotoxicidade.

Palavras-chave: Alecrim. Orégano. Bioprospecção. Células.

INTRODUÇÃO

A família *Lamiaceae* compreende diversas plantas aromáticas, dentre elas *Origanum vulgare* L. (orégano) e *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), reconhecidos pela potencialidade biológica dos seus óleos essenciais (CLEFF et al., 2012; CLEFF et al., 2013; SADERI; ABBASI, 2011; WANG et al., 2012). Os óleos essenciais são compostos por uma mistura variável de terpenoides e hidrocarbonetos de baixo peso molecular, como: álcoois, aldeídos, ácidos, cumarinas, entre outros. Os compostos terpênicos: cânfora, timol, carvacrol, e 1,8-cineol, foram detectados nos óleos essenciais de *O. vulgare* e *R. officinalis* (CLEFF et al., 2012; CLEFF et al., 2013). A atividade antimicrobiana tem sido atribuída principalmente aos terpenos e derivados, muitas vezes devido à capacidade destes compostos de interagirem com diferentes moléculas alvo e funções celulares, tais como inibição da síntese de ácidos nucleicos, das funções da membrana citoplasmática e do metabolismo energético (DUNKIC et al., 2013; LIMA et al., 2013).

Nos extratos etanólicos e aquosos, embora sejam encontradas poucas caracterizações na literatura, existem relatos sobre a presença de compostos fenólicos não voláteis, como ácido rosmarínico, carnosol e ácido carnósico, e alguns flavonoides, dentre eles quercetina, rutina e canferol (PAPAGEORGIOU et al., 2008; TSIMOGIANNIS et al., 2007). A proporção de cada constituinte químico pode variar e ser frequentemente afetada por condições ambientais, devido à interface química entre plantas e o ambiente circundante, podendo assim resultar em atividades citotóxicas e biológicas diferentes (GOBBO-NETO; LOPES, 2006). Nesse sentido, os testes de citotoxicidade nas etapas de triagem para utilização de extratos vegetais em estudos biológicos são indispensáveis. Apesar de haver descrição de atividade biológica, não há estudos acerca da composição química e toxicidade de extratos de *O. vulgare* L. e *R. officinalis* L. nas linhagens celulares Madin-Darby bovine kidney (MDBK), rabbit kidney (RK 13), Madin-Darby canine kidney (MDCK) e Crandell Rees feline kidney (CRFK) até o presente. Este trabalho teve por objetivos a identificação dos compostos químicos presentes nos óleos essenciais e extratos aquoso e etanólico de *O. vulgare* L. e *R. officinalis* L., e avaliação da toxicidade frente a diferentes linhagens celulares.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e extrações dos óleos essenciais

As folhas de *O. vulgare* e *R. officinalis* utilizadas no trabalho foram adquiridas da Empresa Luar Sul Indústria e Comércio de Produtos Alimentícios – Santa Cruz do Sul/RS.

Para a obtenção dos óleos essenciais, 100 g das folhas secas foram submetidas à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger. Após 4 horas de extração, o óleo foi separado da fase aquosa com auxílio de um funil de separação, seco com sulfato de sódio (Na_2SO_4), concentrado sob nitrogênio e armazenado em frasco âmbar. Os óleos essenciais foram mantidos sob refrigeração até a caracterização química e análise de citotoxicidade.

Preparação dos extratos aquoso e etanólico

Para obtenção do extrato etanólico bruto, uma solução de folhas secas de *O. vulgare* e *R. officinalis* a 10% em etanol foram colocadas sob agitação constante, em chapa de aquecimento com banho de óleo, a uma temperatura entre 65 °C e 70 °C por 24 horas. O extrato obtido foi filtrado e a obtenção de um extrato seco foi realizada em evaporador rotatório.

Para obtenção do extrato aquoso bruto, foram utilizadas folhas secas de *O. vulgare* e *R. officinalis* a 10% em água destilada. As amostras foram mantidas sob agitação em chapa de aquecimento da mesma forma que para obtenção dos extratos etanólicos, mas por uma hora. Foi realizada decantação por 15 minutos, e posterior filtração, e a técnica foi repetida até a obtenção de três extrações, as quais foram homogeneizadas e liofilizadas. O extrato liofilizado foi acondicionado em frascos hermeticamente fechados e mantidos sob refrigeração para posterior utilização.

Condições das análises

Cromatografia gasosa (GC/FID)

A cromatografia gasosa foi utilizada para análise dos óleos essenciais obtidos, em equipamento GC/FID (Shimadzu, GC2010) equipado com coluna de sílica DB-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), nas seguintes condições cromatográficas: temperatura inicial de 40 °C,

umentando na taxa de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até atingir $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, depois a taxa foi de $2\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até atingir $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ e finalmente $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ até $280\text{ }^{\circ}\text{C}$, permanecendo nesta temperatura por 10 min; $T_d=300\text{ }^{\circ}\text{C}$; $T_{inj}=300\text{ }^{\circ}\text{C}$; $T_{col}=40\text{ }^{\circ}\text{C}$; Split=1:50. Foi preparada uma solução do óleo a $5000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ em hexano e uma solução de $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de uma mistura de padrões cromatográficos, dos quais foram injetados $1\text{ }\mu\text{L}$. Os constituintes foram identificados por comparação entre o tempo de retenção dos padrões e das amostras.

Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)

As análises cromatográficas dos extratos aquoso e etanólico foram realizadas empregando a técnica de HPLC utilizando o equipamento da Varian® com detector de arranjo de diodos (DAD) com varredura de 200 a 800 nm, equipado com coluna de fase estacionária C18 Phenomenex Gemini (25 cm x 4,6 mm x 5 μm), pré-coluna de mesma fase e fase móvel binária de água com 6% de ácido acético e 2 mM de acetato de sódio (eluente A) e acetonitrila (eluente B), com fluxo de $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e volume de injeção de $10\text{ }\mu\text{L}$. Os perfis cromatográficos foram obtidos aplicando o seguinte gradiente: 0 min, 5% de B; 45 min, 15% de B; 55 min, 30% de B; 60 min, 50% de B; 65 min, 100% de B, e finalmente, em 75 min, 5% de B. As soluções dos extratos aquosos foram solubilizadas em água ultra purificada, e as soluções dos extratos etanólicos em metanol. Os padrões ácido rosmarínico, ácido cafeico, ácido ferúlico, carnosol, ácido p-cumárico, ácido vanílico, ácido siríngico, vanilina, ácido sinápico, rutina, ácido carnósico, luteolina, apigenina, canferol e quercetina foram preparados em metanol.

Citotoxicidade

As linhagens celulares MDBK, RK13, MDCK e CRFK foram cultivadas em microplacas e colocadas em estufa a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ com 5% de CO_2 durante 24 horas, em meio essencial mínimo de Eagle (E-MEM) contendo 10% de soro fetal bovino e antibióticos. As monocamadas celulares obtidas foram tratadas com diferentes concentrações, a partir de $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ a $0,005\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ dos óleos essenciais, enquanto que para os extratos aquoso e etanólico, as concentrações variaram de $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ até $0,09\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de *O. vulgare* e *R. officinalis*. Após 72 horas de tratamento a viabilidade celular foi mensurada através do ensaio MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio) conforme descrito por Mosmann (1983). Células

tratadas somente com E-MEM foram usadas como controles. Foram consideradas não tóxicas aquelas concentrações cuja viabilidade celular foi próxima a 100%, quando comparadas aos controles celulares não tratados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise cromatográfica dos óleos essenciais

A concentração dos terpenos encontrados nas amostras de óleos essenciais de *O. vulgare* e *R. officinalis* foi calculada em relação à área normalizada dos picos, cujos tempos de retenção eram iguais aos tempos dos padrões. De acordo com o cromatograma obtido da amostra do óleo essencial de orégano (*O. vulgare*) analisada, pode-se constatar como metabólitos secundários majoritários, α -terpineno, γ -terpineno, linalol, 4-terpineol e timol. A Figura 1 demonstra os picos identificados em comparação com os padrões para a análise da composição química do óleo essencial de *O. vulgare*.

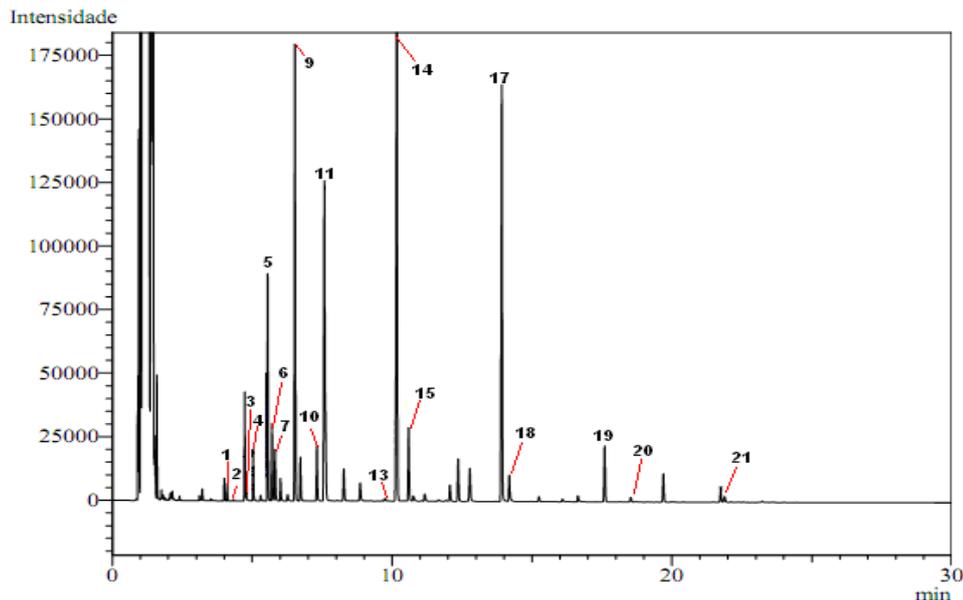


Figura 1 - Cromatograma de amostra de óleo essencial de *Origanum vulgare* obtido via cromatografia gasosa (GC/FID), conforme padrões.

O conteúdo dos metabólitos secundários varia devido a fatores relacionados às condições ambientais, climáticas e experimentais, bem como o método de extração utilizado, dificultando uma análise comparativa com resultados de outros estudos (GOBBO-NETO; LOPES, 2006). Entretanto, resultados semelhantes foram encontrados quando foi obtido o

perfil cromatográfico de um óleo essencial de *O. vulgare* que apresentou atividade antimicrobiana de interesse veterinário (CLEFF et al., 2013). E, de modo semelhante com os resultados obtidos no presente estudo, foi relatada a presença de compostos como o timol, carvacrol, *o*-cimeno e α -terpineol, pela técnica de cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massa (HUSSAIN et al., 2011). Outros autores também relatam como constituintes majoritários o 4-terpinenol, α -terpineol, timol e carvacrol, assim como *p*-cimeno, 1,8 cineol, limoneno e γ -terpineno (BARANAUSKIENE et al., 2006; BORGES et al., 2012).

De acordo com os resultados da identificação química do óleo essencial de alecrim (*R. officinalis*) pôde-se constatar como metabólitos secundários majoritários α -pineno, canfeno, 1,8-cineol e cânfora. A concentração dos terpenos encontrados nas amostras de óleos essenciais foi calculada em relação à área normalizada dos picos, conforme observado na Figura 2.

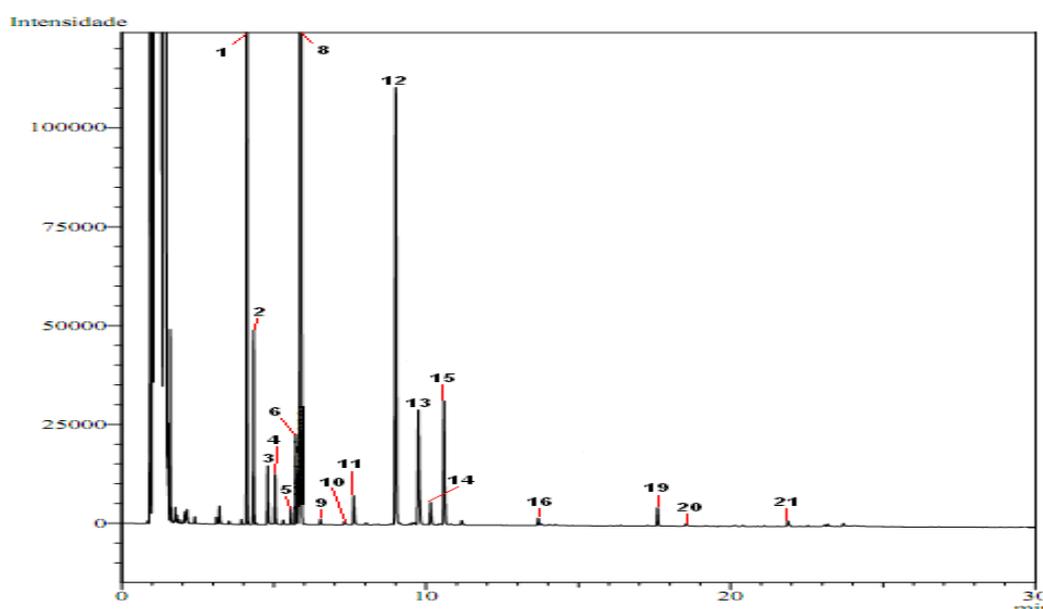


Figura 2 - Cromatograma de amostra de óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* obtido via cromatografia gasosa com detector de ionização em chama (GC/FID), conforme padrões.

Alguns estudos registraram resultados semelhantes ao do presente trabalho, sendo observado 1,8-cineol como composto majoritário (KABOUCHE et al., 2005), enquanto outros identificaram canfeno, α -pineno, cânfora, eucaliptol e β -mirceno (ANGIONI et al., 2004; HUSSAIN et al., 2010).

Análise cromatográfica dos extratos aquoso e etanólico por HPLC

Nos extratos aquoso e etanólico de *O. vulgare* e *R. officinalis* foram identificados os compostos fenólicos: ácido carnósico, ácido rosmarínico, luteolina, apigenina, canferol e quercetina, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Identificação química de extratos aquoso e etanólico de *Rosmarinus officinalis* e *Origanum vulgare* por HPLC com os respectivos tempos de retenção.

Substância	Tempo de retenção (min)	EAA ¹ (mg/g)*	EEA ² (mg/g)*	EAO ³ (mg/g)*	EEO ⁴ (mg/g)*
Ácido cafeico	14,86	-	34	-	38
Ácido p-cumárico	25,48	12	-	14	11
Ácido rosmarínico	53,92	153	87	70	146
Ácido sinápico	33,96	-	-	-	-
Ácido siríngico	16,32	-	-	-	-
Ácido vanílico	13,95	-	-	-	-
Apigenina	69,12	43	50	40	51
Canferol	68,08	251	240	243	238
Carnosol	67,01	26	28	-	31
Luteolina	60,68	32	35	40	36
Quercetina	60,33	83	76	84	81
Vanilina	19,44	-	-	-	-

¹Extrato aquoso de *R. officinalis*, ²extrato etanólico de *R. officinalis*; ³extrato aquoso de *O. vulgare*, ⁴extrato etanólico de *O. vulgare*; *concentração dos compostos nos respectivos extratos.

Poucos estudos têm sido desenvolvidos visando identificação dos constituintes de extratos aquosos e etanólicos, sendo importante essa identificação. No presente estudo, o extrato etanólico de *O. vulgare* apresentou maior quantidade de constituintes químicos, quando comparando com os outros extratos analisados. Relatos demonstram que os tipos de solventes utilizados interferem na quantidade de constituintes químicos extraídos (DANILA et al., 2011). Carnosol não foi identificado no extrato aquoso de *O. vulgare*, estando presente nos cromatogramas dos demais extratos desse estudo, enquanto que o ácido cafeico não foi identificado nos extratos aquosos de *O. vulgare* e *R. officinalis*. O extrato

etanólico de *O. vulgare* evidenciou a presença de ácido p-cumárico, diferentemente do extrato etanólico de *R. officinalis*, o qual não apresentou essa substância.

Alguns estudos identificaram nos extratos aquosos de *O. vulgare* a presença de ácido rosmarínico, apigenina e luteolina (KOSAR et al., 2005; TSIMOGIANNIS et al., 2007), assim como tem sido citada a presença de ácido cafeico no extrato metanólico de *O. vulgare* (PROESTOS et al., 2008). Sy et al. (2005), identificaram a quercetina entre os flavonoides presentes no extrato aquoso e etanólico de *O. vulgare*, no presente trabalho a quercetina foi identificada nos extratos aquoso e etanólico de *O. vulgare* e de *R. officinalis*. Com relação à presença de ácidos fenólicos, o ácido rosmarínico destacou-se como composto majoritário nos extratos de *O. vulgare* e de *R. officinalis*, como relatado em outros trabalhos (NOLKEMPER et al. 2006; REICHLING et al., 2008; ZIAKOVA; BRANDSTETEROVA, 2003).

Citotoxicidade

As linhagens celulares utilizadas nesse estudo são amplamente utilizadas para isolamento e propagação de diversos vírus de interesse veterinário. A adição dos diferentes extratos causou um decréscimo na viabilidade celular, proporcional às concentrações avaliadas. As concentrações não tóxicas detectadas nos ensaios para os óleos essenciais e extratos aquoso e etanólico de *O. vulgare* e *R. officinalis* estão relatadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Concentrações não tóxicas dos óleos essenciais e extrato bruto aquoso e etanólico de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* ($\mu\text{g}/\text{mL}$) em diferentes linhagens celulares.

CÉLULAS	AA ¹	EA ²	OA ³	AO ⁴	EO ⁵	OO ⁶
CRFK	50	3,125	0,023	50	3,125	0,023
MDBK	50	6,25	0,023	50	12,5	0,052
MDCK	50	6,25	0,023	50	25	0,013
RK13	12,5	3,125	0,023	3,125	12,5	0,013

¹Extrato aquoso de *R. officinalis*, ²extrato etanólico de *R. officinalis*, ³óleo essencial de *R. officinalis*; ⁴extrato aquoso de *O. vulgare*, ⁵extrato etanólico de *O. vulgare*, ⁶óleo essencial de *O. vulgare*.

A citotoxicidade relaciona-se com uma ou mais substâncias químicas presentes nos extratos e no óleo essencial, além da possibilidade de haver algum tipo de sinergismo entre elas, pois diversos compostos foram identificados (MUSCHIETTI; MARTINO, 2012).

As pesquisas de Brum (2006) sobre citotoxicidade de compostos isolados indicou concentrações tóxicas a partir de 120 µg/mL para os ácidos fenólicos: ferúlico e transcinâmico, a partir de 35 µg/mL para o flavonoide canferol e de 10 µg/mL para o flavonoide quercetina em células de rim canino MDCK; e de concentrações tóxicas a partir de 100 µg/mL para os ácidos fenólicos: ferúlico e transcinâmico, a partir de 50 µg/mL para o flavonoide canferol e de 20 µg/mL para o flavonoide quercetina em células de rim bovino MDBK.

Pesquisa realizada por Jeong et al. (2007) descreve efeitos citotóxicos determinados pelo ensaio MTT de flavonoides em linhagens AML-2 e AML-2/D100, associados com a presença de grupos 5-OH e/ou 7-OH. No nosso estudo foi identificada a presença de 5-OH na quercetina, identificada no extrato aquoso e etanólico de *O. vulgare* e *R. officinalis*, podendo ser um dos compostos responsáveis pela citotoxicidade observada.

Observou-se que os óleos essenciais de *O. vulgare* e *R. officinalis* apresentaram-se mais tóxicos às células quando comparados com os extratos aquoso e etanólico de ambas as plantas. Sabe-se que os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com grande quantidade de terpenos, o que pode explicar a maior citotoxicidade dos óleos, com relação aos extratos (VITTI; BRITO, 2003). Neste experimento, o óleo essencial de alecrim não demonstrou toxicidade celular em concentrações de 0,023 µg/mL, entretanto, em relação ao óleo essencial de orégano as concentrações não tóxicas variaram de 0,052 µg/mL (MDBK) a 0,013 µg/mL (MDCK e RK13). Resultados semelhantes foram descritos por Wang et al. (2012), que observaram viabilidade celular de 36,13% com o uso de óleo essencial de alecrim na concentração de 0,0625% (v/v) em células SK-OV-3, e na concentração de 1% (v/v) a viabilidade celular foi inferior a 11%. Relatos na literatura demonstraram que o carvacrol, encontrado no óleo essencial de *O. vulgare*, tem sido um importante constituinte associado à citotoxicidade (ALVIANO; ALVIANO, 2009; JAAFARI et al., 2007). Em um estudo de citotoxicidade com terpenos e óleo essencial de *Eucalyptus benthamii*, o α -pineno não apresentou citotoxicidade a partir 192,42 µg/mL, γ -terpineno na concentração de 136,6 µg/mL, 4-terpineol foi de 50,20 µg/mL e com o óleo essencial foi de 54,96 µg/mL, entretanto os autores trabalharam considerando redução de atividade

mitocondrial em 50% (IC 50%), além de utilizarem mistura de compostos na avaliação da citotoxicidade, diferentemente de nosso estudo (DÖLL-BOSCARDIN et al., 2012).

No estudo realizado com as espécies de *O. manjerona* e *O. vulgare*, em diferentes células humanas, pôde-se verificar maior citotoxicidade do óleo essencial de *O. manjerona*, composto por 4-terpienol, linalol, limoneno e α -terpineol, na concentração de 70 $\mu\text{g/mL}$ nas células MCF-7, 85 $\mu\text{g/mL}$ nas células LNCaP, 300 $\mu\text{g/mL}$ nas células NIH-3T3 quando comparado ao de *O. vulgare*, composto por timol, carvacrol e α -terpineol, com citotoxicidade a partir de 100 $\mu\text{g/mL}$ nas células MCF-7, 90 $\mu\text{g/mL}$ nas células LNCaP, e 320 $\mu\text{g/mL}$ nas células NIH-3T3 (HUSSAIN et al., 2011), entretanto salienta-se que os autores trabalharam com IC 50% no teste do MTT, o que difere deste trabalho.

O presente trabalho é pioneiro na avaliação da citotoxicidade de óleos essenciais e extratos aquoso e etanólico de *O. vulgare* e *R. officinalis* nas células MDBK, MDCK, RK13 e CRFK. A partir da determinação da concentração não citotóxica será possível a realização de estudos que envolvam atividades biológicas nessas linhagens celulares. O conhecimento da composição química assim como a determinação da citotoxicidade de extratos vegetais são etapas importantes para utilização segura nas avaliações da potencialidade biológica dos mesmos.

CONCLUSÃO

Os principais compostos presentes no óleo essencial de *O. vulgare* foram α -terpineno, γ -terpineno, linalol, 4-terpineol e timol, enquanto que no óleo de *R. officinalis* foram α -pineno, canfeno, 1,8-cineol e cânfora. Nos extratos aquoso e etanólico foram detectados ácido rosmarínico, luteolina, canferol, apigenina e quercetina. Os óleos essenciais nas linhagens celulares MDBK, MDCK, RK13 e CRFK mostraram-se mais tóxicos quando comparados com os extratos aquoso e etanólico de ambas as plantas, enquanto que os extratos aquosos demonstraram maior viabilidade celular que os extratos etanólicos.

CHEMICAL COMPOSITION AND CYTOTOXICITY OF *Origanum vulgare* L. AND *Rosmarinus officinalis* L.

ABSTRACT

Considering the antimicrobial potential of natural products, this work aimed to study the chemical composition and the cytotoxicity of aqueous and essential oils of ethanolic extracts of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis*. The chemical identification of essential oils was performed by the gas chromatographic flame ionization detector (GC/FID) and by high-performance liquid chromatography (HPLC) for the extracts. The cytotoxicity was measured by the MTT method on MBDK, RK13, MDCK and CRFK cell cultures. The predominant compounds in essential oils of *O. vulgare* were α -terpinene, γ -terpinene, linalool, 4-terpineol and thymol, while α -pinene, camphene, 1,8-cineole and camphor were found in the *R. officinalis* essential oil. In aqueous and ethanolic extracts rosmarinic acid, luteolin, kaempferol, apigenin and quercetin were found. It was observed higher cytotoxicity from the essential oils, followed by ethanolic extracts from *O. vulgare* and *R. officinalis*, but also dependent of the cell line. The results suggest that the compounds α -terpinene, γ -terpinene, linalool, 4-terpineol and thymol present in the essential oil of *O. vulgare*, as well as α -pinene, camphene, camphor, and 1,8-cineole present in the essential oil of *R. officinalis* have higher potential for cytotoxicity.

Keywords: Rosemary. Oregano. Bioprospection. Cells.

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CITOTOXICIDAD DE *Origanum vulgare* L. Y *Rosmarinus officinalis* L.

RESUMEN

Teniendo en cuenta el potencial antimicrobiano de productos naturales, este estudio tuvo como objetivos estudiar la composición química y la citotoxicidad de aceites esenciales y extractos acuosos y etanólico de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis*. La identificación química de los aceites esenciales fue lograda por cromatografía gaseosa con detector de la ionización de llama (GC/FID) y de los extractos por cromatografía líquida de alta resolución (CLAE). La citotoxicidad fue medida por el método de MTT en linajes celulares MBDK, RK13, MDCK y CRFK. Los principales compuestos encontrados en los aceites de *O. Vulgare* fueron α -terpineno, γ -terpineno, linalol, 4-terpineol y timol, mientras que en el aceite de *R. officinalis* lo fueron α -pineno, canfeno, 1,8-cineol y alcanfor. En los dos extractos fue observado ácido rosmarínico, luteolina, kaempferol, apigenina y la quercetina. Los análisis demostraron mayor citotoxicidad en los aceites esenciales, seguida de los extractos etanólicos, aunque también dependiente de las líneas celulares. Los resultados sugieren que los compuestos α -terpineno, γ -terpineno, linalol, 4-terpineol y timol presente en el aceite esencial de *O. vulgare*, así como α -pineno, canfeno, alcanfor y el 1,8-cineol

presente en el aceite esencial de *R. officinalis*, tienen un mayor potencial para la citotoxicidad.

Palabras clave: Romero. Oregano. Bioprospección. Células.

REFERÊNCIAS

ALVIANO, D. S.; ALVIANO, C. S. Plant Extracts: Search for New Alternatives to Treat Microbial Diseases. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 10, p. 106-121, 2009.

ANGIONI, A.; BARRA, A.; CERETI, E.; et al. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 11, n. 52, p. 3530-3535, 2004.

BARANAUSKIENE, R.; VENSKUTONIS, P. R.; DEWETTINCK, K.; et al. Properties of oregano (*Origanum vulgare* L.), citronella (*Cymbopogon nardus* G.) and marjoram (*Majorana hortensis* L.) flavors encapsulated into milk protein-based matrices. **Food Research International**, v. 39, p. 413–425, 2006.

BORGES, A. M.; PEREIRA, J.; CARDOSO, M. G.; et al. Determinação de óleos essenciais de alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 656-665, 2012.

BRUM, L. P. **Atividade antiviral dos compostos fenólicos (ácidos ferúlico e transcinâmico) e dos flavonóides (quercetina e kaempferol) sobre os herpesvirus bovino 1, herpesvirus bovino 5 e vírus da cinomose canina.** Viçosa: UFV, 2006. 73p. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, 2006.

CLEFF, M. B.; MEINERZ, A. R. M.; MADRID, I.; et al. Perfil de suscetibilidade de leveduras do gênero *Candida* isoladas de animais ao óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. **Revista brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 1, 2012.

CLEFF, M. B.; MADRID, I. M.; MEINERZ, A. R. M.; et al. Essential oils against *Candida* spp: *in vitro* antifungal activity of *Origanum vulgare*. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, p. 2245, 2013.

DANILA, O. A.; GATEA, F.; RADU, G. L. Polyphenol composition and antioxidant activity of selected medicinal herbs. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 47, n. 1, p. 22-26, 2011.

DÖLL-BOSCARDIN, P. M.; SARTORATTO, A.; MAIA, B. H. L. N. S.; et al. In Vitro Cytotoxic Potential of Essential Oils of *Eucalyptus benthamii* and Its Related Terpenes on Tumor Cell Lines. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-8, 2012.

DUNKIC, V.; VUKO, E.; BEZIC, N.; et al. Composition and antiviral activity of the essential oils of *Eryngium alpinum* and *E. amethystinum*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 10, p. 1894-1902, 2013.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: Fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2006.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; CHATHA, S. A. S; et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 41, n. 4, p. 1070-1078, 2010.

HUSSAIN, A. I.; ANWAR, F.; RASHEED, S.; et al. Composition, antioxidant and chemotherapeutic properties of the essential oils from two *Origanum* species growing in Pakistan. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 6, n. 21, p. 943-952, 2011.

JAAFARI, A.; MOUSE, H. A.; RAKIB, E. M.; et al. Chemical composition and antitumor activity of different wild varieties of *Moroccan thyme*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 4, n. 17, p. 477-491, 2007.

JEONG, J. M.; CHOL, C. H.; KANG, S. K.; et al. Antioxidant and chemosensitizing effects of flavonoids with hydroxy and/or methoxy groups and structure-activity relationship. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 10, p. 537-540, 2007.

KABOUCHE, Z.; et al. Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. **International Journal Aromatherapy**, v. 3, n. 15, p. 129-133, 2005.

KOSAR, M.; DORMAN, H. J. D.; HILTUNEN, R. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. **Food Chemistry**, v. 91, p. 525-533, 2005.

LIMA, L. M.; BABAKANI, B.; BOLDAJI, S. A. H.; et al. Essential oils composition and antibacterial activities of *Eucalyptus camaldilensis* Dehn. **International Journal of Medicinal and Aromatic Plants**, v. 3, n. 2, p. 214-219, 2013.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, p. 55-63, 1983.

MUSCHIETTI, L. V; MARTINO, V. S. Atividades biológicas dos flavonoides naturais. In: YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. (Org.). **Química de produtos naturais novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 3. ed. Itajaí: Univali-Funpex, 2012. Cap. 8, p. 189-218.

NOLKEMPER, S.; REICHLING, J.; STINTZING, F. C.; et al. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. **Planta Medica**, v. 15, n. 72, p. 1378-1382, 2006.

- PAPAGEORGIOU, V.; MALLOUCHOS, A.; KOMAITIS, M. Investigation of the antioxidant behavior of air- and freeze-dried aromatic plant materials in relation to their phenolic content and vegetative cycle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5743-5752, 2008.
- PROESTOS, C.; KAPSOKEFALOU, M.; KOMAITIS, M. Analysis of naturally occurring phenolic compounds in aromatic plants by Rp-HPLC and GC-MS after Silylation. **Journal of Food Quality**, v. 31, p. 402-414, 2008.
- REICHLING, J.; NOLKEMPER, A. S.; STINTZING, F. C.; et al. Impact of Ethanolic Lamiaceae Extracts on Herpesvirus infectivity in cell culture. **Forsch Komplementmed**, v. 15, p. 313-320, 2008.
- SADERI, H.; ABBASI, M. Evaluation of anti-adenovirus activity of some plants from Lamiaceae family grown in Iran in cell culture. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 76, p. 17546-17550, 2011.
- SY, L.; JY, R.; WB, P. Antiherpetic activities of Flavonoids against herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and type 2 (HSV-2) in vitro. **Archives of Pharmacology Research**, v. 28, p. 1293-1301, 2005.
- TSIMOGIANNIS, D.; SAMIOTAKI, M.; PANAYOTOU, G.; et al. Characterization of Flavonoid Subgroups and Hydroxy Substitution by HPLC-MS/MS. **Molecules**, v. 12, p. 593-606, 2007.
- VITTI, A. M. S.; BRITO, J. O. Óleo essencial de eucalipto. **Documentos Florestais**, v. 17, p. 1-26, 2003.
- WANG, W.; LI, N.; LUO, M.; et al. Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. Essential oil compared to that of its main components. **Molecules**, v. 17, p. 2704-2713, 2012.
- ZIAKOVA, A.; BRANDSTETEROVA, E. Validation of HPLC determination of phenolic acids present in some Lamiaceae family plants. **Journal of liquid chromatography & related technologies**, v. 3, n. 26, p. 443-453, 2003.

Autor para correspondência:

Daiane Einhardt Blank.

Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental, *Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Campus Santo Antônio da Patrulha, Rua Barão do Caí, 125, Bairro: Cidade Alta, Santo Antônio da Patrulha (RS). CEP: 95500-000.*

daiane_blank@yahoo.com.br