



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA – CAMPUS GOVERNADOR
VALADARES
GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

ANDRESSA BARROS PASCHOALIM

***Rosmarinus officinalis* L. constituição química e atividades biológicas**

GOVERNADOR VALADARES

2021

ANDRESSA BARROS PASCHOALIM

***Rosmarinus officinalis* L. constituição química e atividades biológicas**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico na Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares.

ORIENTADORA: PROF.^a DR.^a YDIA MARIELE VALADARES

GOVERNADOR VALADARES

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da
Biblioteca Universitária da UFJF,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Paschoalim, Andressa Barros.

Rosmarinus officinalis L. constituição química e atividades
biológicas / Andressa Barros Paschoalim. -- 2021.

68 f. : il.

Orientador: Ydia Mariele Valadares

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado de Governador Valadares,
Instituto de Ciências da Vida - ICV, 2021.

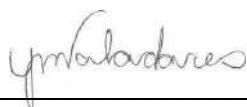
1. *Rosmarinus officinalis*. 2. Composição química. 3. Atividades
biológicas. I. Valadares, Ydia Mariele, orient. II. Título.

ANDRESSA BARROS PASCHOALIM

***Rosmarinus officinalis* L. constituição química e atividades biológicas**

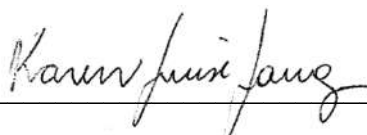
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico na Universidade Federal de Juiz de Fora – Campus Governador Valadares.

Aprovado em: 11 de março de 2021



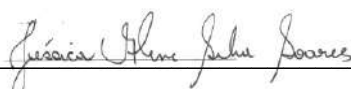
Prof^ª. Dr^ª. Ydia Mariele Valadares- Orientadora

Universidade Federal de Juiz de Fora-Campus Governador Valadares



Prof^ª. Dr^ª. Karen Luise Lang

Universidade Federal de Juiz de Fora-Campus Governador Valadares



Prof^ª. Jéssica Aline Silva Soares

Universidade Federal de Juiz de Fora-Campus Governador Valadares

RESUMO

A espécie *Rosmarinus officinalis* L. pertencente à família Lamiaceae, popularmente conhecida como alecrim, possui uso milenar na medicina tradicional, sendo bastante empregada no tratamento de diversas enfermidades, como cicatrizante, antimicrobiano, antioxidante e para desobstrução nasal. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento bibliográfico visando conhecer e organizar as contribuições científicas disponíveis sobre a composição química e atividades biológicas, *in vivo* e *in vitro*, relatadas para a espécie e compostos isolados. Foram localizadas oitenta e oito referências nas bases de dados Lilacs, Pubmed, Scielo e Google acadêmico, condizentes com os critérios de inclusão e exclusão definidos. As principais atividades biológicas relatadas para os extratos e compostos isolados da espécie foram antineoplásica, anti-inflamatória e antioxidante. Também foram encontrados alguns trabalhos avaliando a atividade antidepressiva da espécie. Na composição química da espécie destacam-se diterpenos, constituintes dos óleos essenciais, flavonóides e triterpenos, aos quais são atribuídas as atividades biológicas. A atividade antineoplásica se dá devido à interrupção do ciclo celular das células tumorais pelos ácido carnósico e rosmarínico. Os ácidos caféico, carnósico, rosmarínico, ursólico, betulínico e carnosol atuam na redução de citocinas pró-inflamatórias, através da inibição das ciclooxigenases 1 e 2. As atividades antidepressivas foram relacionadas ao aumento da concentração de serotonina. Os estudos mostram que a espécie constitui uma excelente fonte de compostos com propriedades farmacológicas, sendo uma opção para o desenvolvimento de fitoterápicos antioxidantes, anti-inflamatórios, além de se mostrar como uma promissora fonte de compostos antineoplásicos.

Palavras-chave: *Rosmarinus officinalis* L.. Alecrim. Atividades biológicas. Composição química.

ABSTRACT

The species *Rosmarinus officinalis* L. belonging to the family Lamiaceae, popularly known as rosemary, has millenary use in traditional medicine, being widely used in the treatment of several diseases, such as healing, antimicrobial, antioxidant and nasal clearance. In this context, the present work aimed to conduct a bibliographic survey aiming to know and organize the available scientific contributions on chemical composition and biological activities, in vivo and in vitro, reported for the species and isolated compounds. Eighty-eight references were found in lilacs, pubmed, scielo and google academic databases, consistent with the inclusion and exclusion criteria defined. The main biological activities reported for the extracts and compounds isolated from the species were antineoplastic, anti-inflammatory and antioxidant. Some studies evaluating the antidepressant activity of the species were also found. In the chemical composition of the species diterpenes stand out, constituents of essential oils, flavonoids and triterpenes, to which biological activities are attributed. Antineoplastic activity occurs due to the interruption of the cell cycle of tumor cells by carnogenic and rosmarinic acid. The caffeic, carnolic, rosmarinic, ursolic, betulynic and carnosol acids act in the reduction of pro-inflammatory cytokines by inhibiting cyclooxygenases 1 and 2. Antidepressant activities were related to increased serotonin concentration. Studies show that the species is an excellent source of compounds with pharmacological properties, being an option for the development of antioxidant, anti-inflammatory herbal medicines, besides showing itself as a promising source of antineoplastic compounds.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L..Rosemary. Biological activities. Chemical composition.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclos da divisão celular	27
Figura 2. Sítio de ação de diferentes classes de anticancerígenos no ciclo de divisão celular.....	28
Figura 3. Indução da apoptose em células de AGS e KYSE-30 quando expostas ao extrato das folhas de <i>R. officinalis</i>	31
Figura 4. Ação do carnosol na modulação do ciclo de multiplicação celular.....	35
Figura 5. Efeito do extrato de <i>R. officinalis</i> na produção das citocinas pró-inflamatórias 1β e TNF- α , na presença ou ausência de lipopolissacarídeos.....	40
Figura 6. Expressão gênica pró-inflamatória em mastócitos, após tratamento com extrato de <i>R. officinalis</i> na concentração de 25 mg/mL.....	41
Figura 7: Concentração de IL-6, IL-13 e TNF- α após incubação com os ácidos carnósico, rosmarínico e carnosol, obtidos de <i>R. officinalis</i>	44
Figura 8. Capacidade de eliminação do radical DPPH para extrato <i>R. officinalis</i> (A) e frações diclorometano (B), acetato de etila (C) e n-butanólico (D).....	50
Figura 9. Concentração da glutatona reduzida (GSH) de camarões alimentados com 2% do extrato de <i>R. officinalis</i> (T1), 5% (T2) E 15% (T3)	52
Figura 10. Atividade da enzima glutatona redutase (GR) em camarões alimentados com 2% do extrato de <i>R. officinalis</i> (T1), 5% (T2) E 15% (T3)	53
Figura 11. Efeito do extrato aquoso de <i>R. officinalis</i> no dano induzido por dióxido de titânio às enzimas antioxidantes plasmáticas.....	53

Figura 12. Efeito do extrato de <i>R. officinalis</i> no teste nado forçado.....	
58	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação botânica de <i>Rosmarinus officinalis</i>	
18	
Tabela 2. Atividades biológicas e constituintes químicos isolados de <i>R. officinalis</i> L.	22
Tabela 3. Relação da concentração do extrato das folhas de <i>R. officinalis</i> e edema induzido por formaldeído.....	42
Tabela 4. Atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico de <i>R. officinalis</i> pelos métodos de DPPH e ABTS.....	
49	

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ABTS- 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline)-6 sulfonic acid

ACTH- Hormônio adrenocorticotrópico

AIES- Anti-inflamatório esteroideal

AINES- Anti-inflamatórios não esteroidais

ALP- Fosfatase alcalina

ATP- Adenosina trifosfato

AVC- Acidente vascular cerebral

BHA- butil-hidroxianisol

BHT- Butil-hidroxi-tolueno

CAT- Catalase

CEA- Antígeno carcinoembrionário

ConA- Convalina A

COX-1- Ciclo-oxigenase 1

COX-2- Ciclo-oxigenase 2

CPK-BB- Creatinina fosfoquinase BB
DMBA- 7,12-Dimetilbenzeno
DPPH- 1,1-difenil-2-picrilhidrazila
EROs- Espécies reativas de oxigênio
FRAP- Poder antioxidante
GGT- Gama glutaril transferase
GPx- Glutathione peroxidase
GR- Glutathione reductase
GST- Glutathione s-transferase
IgE- Imonoglobulina E
IL-1- Interleucina-1
IL-1 β - Interleucina-1 β
IL-6- Interleucina-6
IL-7- Interleucina 7
IL-9- Interleucina 9
IL-13- Interleucina 13
IL-17a- Interleucina 17a
LDH- Lactato desidrogenase
LPS- Lipopolissacarídeos
MDA- Malonaldeído
MGDG- Monogalactosildiacilglicerol
NSE- Enolase Neuro-Específica
OFT- Teste de campo aberto
OMS- Organização Mundial da Saúde
PAP- Fosfatase ácida prostática
PARP- Polimerase poli ADP ribose
PBMCs- Células mononucleares do sangue periférico
PG- Galato de propila
PGE₂- Prostaglandinas
PLAP- Fosfatase alcalina placentária
PI3K-Akt- Fosfatidilinositol 3-cinase
PTHrP- Paratormônio

PTZ- Pentilenotetrazol
 PSA- Antígeno prostático específico
 Rb2- Retinoblastoma
 RENISUS- Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde
 RNAm-Ácido ribonucleico mensageiro
 ROS- Espécies reativas de oxigênio
 SH2- Src-homologia 2
 SOD- Superóxido dismutase
 SUS- Sistema Único de Saúde
 TAS- Status antioxidante
 TBHQ- Terc-butil-hidroquinona
 TNF- α - Fator de necrose tumoral alfa
 TS- Timidilato sintetase
 TSC- Teste de suspensão pela causa
 TK- Tirosina quinase

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo geral	16
2.2. Objetivos específicos	16
3.METODOLOGIA.....	17
3.1 Critérios de inclusão.....	17
3.2 Critérios de exclusão.....	17
4.REFERENCIAL TEÓRICO	18
4.1. Aspectos botânicos de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	18
4.2. Usos tradicionais de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. 19
4.3 Constituintes químicos isolados de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	

4.4 Atividades biológicas de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	21
4.4.1 Atividade anticarcinogênica.....	26
4.4.1.1 Carcinogênese- breve revisão.....	26
4.4.1.2 Atividade anticarcinogênica <i>in vitro</i> para extratos de <i>R. officinalis</i>	29
4.4.1.3 Atividade anticarcinogênica <i>in vivo</i> para extratos de <i>R. officinalis</i>	33
4.4.1.4 Atividade anticarcinogênica <i>in vitro</i> para constituintes isolados de <i>R. officinalis</i>	34
4.4.1.5 Atividade anticarcinogênica <i>in vivo</i> para constituintes isolados de <i>R. officinalis</i>	35
4.4.2 Atividade anti-inflamatória.....	36
4.4.2.1 Inflamação-breve revisão.....	36
4.4.2.2 Atividade anti-inflamatória <i>in vitro</i> para extratos de <i>R. officinalis</i>	39
4.4.2.3 Atividade anti-inflamatória <i>in vivo</i> para extratos de <i>R. officinalis</i>	41
4.4.2.4 Atividade anti-inflamatória <i>in vitro</i> para compostos isolados de <i>R. officinalis</i>	43
4.4.2.5 Atividade anti-inflamatória <i>in vivo</i> para compostos isolados de <i>R. officinalis</i>	45
4.4.3 Atividade antioxidante.....	47
4.4.3.1 Oxidação- breve revisão.....	47
4.4.3.2 Atividade antioxidante <i>in vitro</i> para extratos de <i>R. officinalis</i>	48
4.4.3.3 Atividade antioxidante <i>in vivo</i> para extratos de <i>R. officinalis</i>	51
4.4.3.4 Atividade antioxidante <i>in vitro</i> para compostos isolados de <i>R. officinalis</i>	54
4.4.3.5 Atividade antioxidante <i>in vivo</i> para compostos isolados de <i>R. officinalis</i>	55
4.4.4 Atividade antidepressiva.....	56
4.4.4.1 Depressão- breve revisão.....	56
4.4.4.2 Atividade antidepressiva <i>in vivo</i> para extratos de <i>R.</i>	

<i>officinalis</i>	57
4.4.4.3 Atividade antidepressiva <i>in vivo</i> para compostos isolados de <i>R.</i>	
<i>officinalis</i>	59
5. CONCLUSÃO.....	61
6. REFERÊNCIAS.....	62

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais é fundamentado no acúmulo de informações por sucessivas gerações que constituíram as bases para tratamento de diversas doenças (HARAGUCHI *et al*, 2020). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da população mundial utilizam práticas tradicionais em cuidados da saúde, sendo que destes, 85% fazem uso de plantas e preparações destas (BRASIL, 2006). Em comunidades carentes, a combinação de fatores como falta de escolaridade, baixa renda, sistema de saúde precário, influência de parteiras e curandeiros locais, bem como a facilidade de acesso às plantas frescas, às drogas vegetais e aos derivados preparados artesanalmente, explicam a adoção da fitoterapia como o principal e muitas vezes, o único recurso para prevenção de doenças (CARDOSO, 2019 apud GENEVA, 1999).

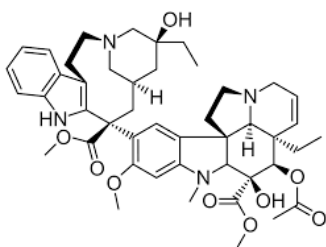
No Brasil, o uso tradicional de plantas medicinais se deu principalmente com base nas culturas indígena e africana (ALENCAR, *et al*, 2019). Atualmente, a fitoterapia e o uso de plantas medicinais fazem parte da prática da medicina popular, constituindo um conjunto de saberes internalizados nos diversos usuários e praticantes, especialmente pela tradição oral, que é transmitida de geração em geração. Trata-se de uma forma eficaz de atendimento primário à saúde, podendo complementar a terapia convencional usualmente empregada, principalmente nas populações de baixa renda (BRUNING, 2012 apud DUNFORD, 2001).

Atualmente, esse conhecimento tradicional é o ponto de partida para os estudos Etnobotânicos que, aliados à estudos químicos, farmacológicos e toxicológicos, permitem assegurar o uso racional das espécies e propagá-lo com segurança (ALENCAR *et al*, 2019). Algumas plantas medicinais já possuem sua eficácia comprovada, sendo empregadas em preparações simples como xaropes, tinturas, pomadas e em produtos tradicionais fitoterápicos. Neste propósito, universidades, entidades religiosas e farmácias vivas, com o apoio de municípios ou empresas privadas, trabalham na produção e disponibilização desses produtos para a população, visando as necessidades epidemiológicas.

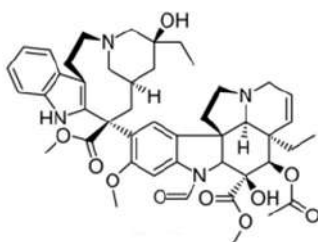
Segundo a RDC nº 26, de 13 de maio de 2014, fitoterápicos são obtidos empregando-se exclusivamente de matéria ativa vegetal, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa, incluindo medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico. Atualmente o mercado de fitoterápicos no Brasil, movimenta cerca de US\$ 20 bilhões por ano e, se encontra em ascensão. Segundo o Ministério da Saúde, a busca por tratamentos à base de fitoterápicos, de 2013 à 2015, teve um crescimento de 161% (MAZIERO *et al*, 2017).

Devido a importância das plantas medicinais, produtos derivados e fitoterápicos para a saúde da população Brasileira, o Ministério da Saúde elaborou no ano de 2009, a Relação Nacional de Plantas Mediciniais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), a qual apresenta 71 espécies listadas que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao SUS. A finalidade da lista é orientar estudos e pesquisas que possam subsidiar a elaboração da relação de fitoterápicos disponíveis para uso da população, com segurança e eficácia para o tratamento de determinadas doenças (BRASIL, 2016).

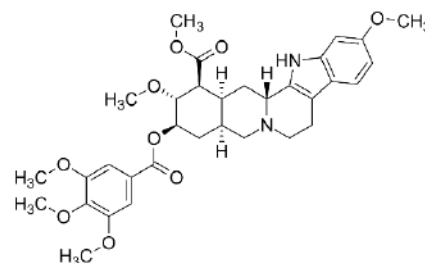
As pesquisas científicas levaram à descoberta de inúmeros compostos a partir de plantas medicinais. Estes compostos são agrupados e, de acordo com a origem biosintética, classificados em grupos denominados metabólitos secundários. Vários representantes destes grupos já possuem atividade comprovada cientificamente, como flavonóides, alcalóides, terpenos, taninos e esteróides que constituem o princípio ativo de vários medicamentos disponíveis no mercado farmacêutico, tais como, antitumorais (vimblastina **(1)** vincristina **(2)**), anti-hipertensivos (reserpina **(3)**), adrenérgicos (efedrina **(4)**) e antimaláricos (quinina **(5)**) (DALMARCO, 2012). O avanço científico acerca destes metabólitos, busca a comprovação da ação farmacológica, o entendimento do mecanismo de ação, bem como o potencial tóxico, visando o desenvolvimento de novos fármacos (MALAQUIAS *et al*, 2014).



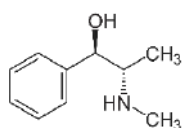
1



2



3

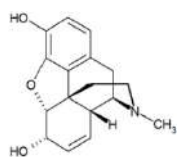


4

5

A pesquisa científica pioneira com o sal de ópio, obtido da espécie *Papaver somniferum* levou ao isolamento do primeiro alcalóide, a morfina **(6)**, isolada em 1803, ainda utilizada nos dias atuais para dores intensas (SIMÕES *et al*, 2017). Outra molécula de importância farmacológica, é a quinina **(5)**, isolada de espécies do gênero *Chinchona*, considerada um marco na terapêutica por configurar o primeiro uso bem sucedido de uma substância química para tratar uma doença infecciosa, a malária. A molécula também serviu

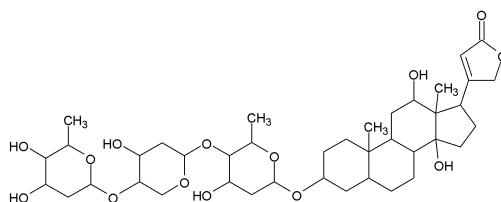
de protótipo para a síntese de outras moléculas ativas como a hidroxicloroquina (**7**), utilizada para diversas patologias, entre elas o lúpus e artrite reumatóide (MENEZES *et al*, 2020). Segundo MENEZES *et al* (2020), a cloroquina foi estudada para uso em pacientes diagnosticados com COVID-19, devido a sua capacidade de agir na imunomodulação e na redução da produção e distribuição de fator de necrose tumoral IL-6, impedindo complicações inflamatórias comuns em doenças virais. No entanto, até o momento sabe-se que o maior efeito antiviral se dá *in vitro*, sendo necessários mais estudos visando avaliar a sua segurança e eficácia no tratamento da COVID-19 (IMOTO *et al*, 2020).



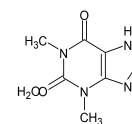
6

7

Outros grupos de metabólitos secundários também constituem princípios ativos de medicamentos. Dentre os heterosídeos cardioativos, por exemplo, a digoxina (**8**), utilizada para arritmias cardíacas e, a teofilina (**9**), metilxantina empregada no tratamento de asma em crianças. Moléculas do grupo das saponinas, devido às suas características anfifílicas, são empregadas como adjuvantes de formulações farmacêuticas, aumentando a solubilidade e absorção de fármacos (SIMÕES *et al*, 2017).



8



9

Inúmeros laboratórios exploram a pesquisa de produtos naturais visando a obtenção de novos medicamentos, com diferentes mecanismos de ação, maior efetividade, menores efeitos colaterais e toxicidade (MOORE *et al*, 2016). Por outro lado, estudos relacionando as plantas de uso tradicional se intensificaram, correlacionando a composição química aos efeitos farmacológicos, com o objetivo de obter medicamentos mais acessíveis e seguros (ROSA, 2013 apud TALHOUK *et al*, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Conhecer as contribuições científicas disponíveis sobre a composição química e atividades biológicas para a espécie *Rosmarinus officinalis* L.

2.2 Objetivos específicos

1. Identificar os usos tradicionais relatados para a espécie *Rosmarinus officinalis* L.
2. Identificar os constituintes químicos isolados da espécie *Rosmarinus officinalis* L.
3. Identificar as atividades farmacológicas, *in vitro* e *in vivo*, relatadas para os extratos de *Rosmarinus officinalis* L.
4. Identificar atividades farmacológicas, *in vitro* e *in vivo*, relatadas para compostos isolados de *Rosmarinus officinalis* L.

3. METODOLOGIA

O presente estudo se caracteriza como uma revisão sistemática. As revisões sistemáticas são estudos secundários que possuem como fonte de dados os estudos primários, os quais relatam os resultados de pesquisa em primeira mão (Galvão *et al*, 2014). Para a composição do estudo elaborou-se a pergunta pesquisa, prosseguiu-se com a busca na literatura, seleção de artigos, extração dos dados, avaliação da qualidade metodológica, síntese dos dados, avaliação da qualidade das evidências e redação dos resultados.

3.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os artigos selecionados para a revisão sistemática inicial foram os compreendidos entre os anos de 2012 a 2020, sendo abordados artigos, livros e monografias nos idiomas de português e inglês. Entre tais artigos foram selecionados os que apresentavam informações mais relevantes e de data mais recente.

3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os artigos excluídos foram os que apresentavam data de publicação anterior à 2012 ou que não fossem de interesse para o presente trabalho por não apresentarem informações sobre o tema abordado.

A pesquisa do trabalho em questão foi realizada no período de dezembro de 2019 a janeiro de 2021 em sites acadêmicos e bases de pesquisa como Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), *Pubmed*, *Scielo*, *Google Acadêmico* através do portal de Periódicos Capes. Para pesquisa em tais bases de dados, foram utilizados os termos (palavras-chave e delimitadores): *Rosmarinus officinalis* L, alecrim, ação farmacológica, classificação botânica, uso de planta medicinal, uso tradicional, propriedades terapêuticas, fitoterapia, depressão, antioxidante, anti-inflamatório, estresse oxidativo, inflamação, atividade antitumoral, ácido ursólico, carnosol, marcadores tumorais e ciclo celular.

A busca na literatura resultou na identificação de 130 referências bibliográficas. Após seleção, 88 referências foram incluídas no estudo, 42 foram excluídas. Após leitura e categorização, elaborou-se um banco de dados para análise dos resultados e construção do trabalho.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 Aspectos botânicos de *R. officinalis* L.

O *R. officinalis* L., conhecido popularmente como alecrim, alecrim de jardim, alecrim-de-cheiro, pertence à família Lamiaceae, que contém cerca de 6970 a 7193 espécies distribuídas em 236 a 258 gêneros (OLIVEIRA *et al*, 2019).

A espécie possui porte arbustivo, podendo atingir até dois metros de altura, possui folhas verdes que exalam fragrância, sendo por isso, classificada como aromática (OLIVEIRA *et al*, 2019). Suas folhas possuem formato de agulha e assim como as flores, possuem colorações variadas como brancas, rosas, roxas ou azuis. A espécie é razoavelmente resistente a climas frios, podendo sobreviver a uma grave falta de água por períodos longos e, seu florescimento ocorre nas estações da primavera e verão (SOUNDARARAJAN *et al*, 2017).

A espécie *R. officinalis* L. pertence ao reino Plantae, classe Magnoliopsida. A tabela 1 mostra sua classificação botânica completa, segundo DALMARCO (2012, apud Lorenzi; Matos, 2006).

Tabela 1: Classificação botânica de *Rosmarinus officinalis* L.

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordem	Lamiales
Família	Lamiaceae
Gênero	<i>Rosmarinus</i>
Espécie	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Nomenclatura Binominal	<i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Labiatae)
Sinonímia botânica	<i>Rosmarinus latifolius</i> Mill
Nomes populares	Alecrim de jardim, alecrim, rosmarinho, lanibotis, alecrinzeiro, alecrim comum, alecrim-de-cheiro, alecrim-de-horta,

	erva-coada, flor-do-olimpio, rosa-marinha, rosmarinho
--	--

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

4.1 Usos tradicionais de *R. officinalis* L.

Em países da América do Sul e da Europa, a espécie é utilizada em infusão para flatulências epigástricas, diurética, digestiva, colerética, colagoga, desobstrução nasal, eliminação de catarros, cicatrizante, antimicrobiana, problemas circulatórios e reumáticos (MALAQUIAS, 2014, apud LORENZI E MATOS, 2002, AFONSO *et al*, 2010), dores de cabeça, enxaqueca, tontura, falta de memória, depressão, eczemas e, analgésico para dores de garganta (MALAQUIAS, 2014 apud SILVA *et al*, 2010).

A espécie constitui também uma fonte de ferro, cálcio e vitamina B-6, para esses casos, é preparada como erva inteira seca, extratos secos ou líquidos (SOUNDARAJAN *et al*, 2017).

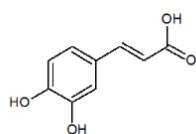
Devido ao seu sabor amargo, adstringente e aroma, a espécie é comumente empregada como tempero pelas cozinhas no mundo todolém disso, por ser atraente e resistente a falta de água, é utilizada pela população como planta ornamental e em paisagismo principalmente em regiões do mediterrâneo (SOUNDARAJAN *et al*, 2017).

O *R. officinalis* L. possui importância não apenas em indústrias de alimentos, mas também na indústria de perfumes, para o desenvolvimento de novas fragrâncias e cosméticos (DALMARCO, 2012).

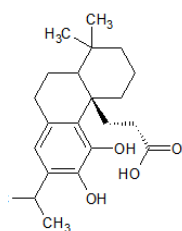
4.2 Constituintes químicos isolados de *R. officinalis* L.

Os óleos essenciais e extratos obtidos de *R. officinalis* L. apresentam composições químicas diferentes, devido ao método empregado na obtenção destes derivados. OLIVEIRA *et al* (2019), identificaram a presença de ácido caféico (10), ácido carnósico (11), ácido rosmarínico, (12) ácido ursólico (13), rosmanol (14), ácido oleanólico (15), carnosol (16), rosmadial (17), ácido monomérico, alfa-pineno (18), cânfora (19), eucaliptol (20), eugenol

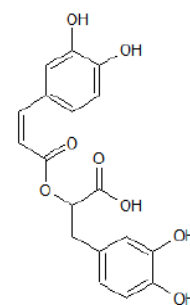
(21), luteolina (22), apigenina (23), ácido botulínico (24) e ácido clorogênico (25) no extrato das folhas e no óleo essencial, variando apenas as concentrações encontradas.



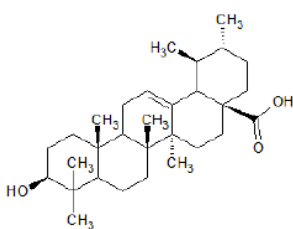
10



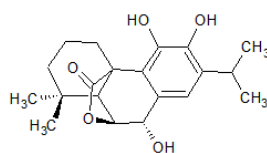
11



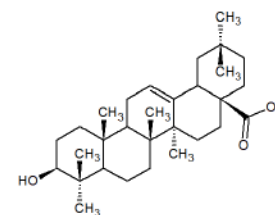
12



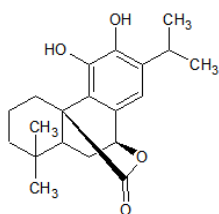
13



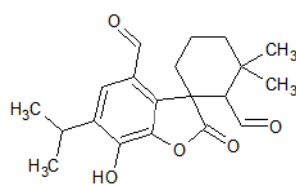
14



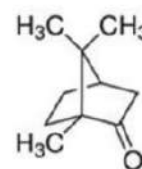
15



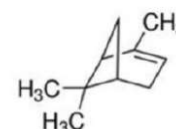
16



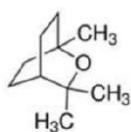
17



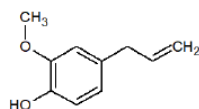
18



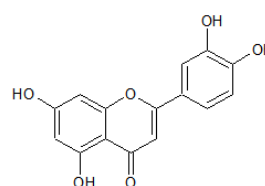
19



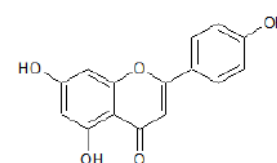
20



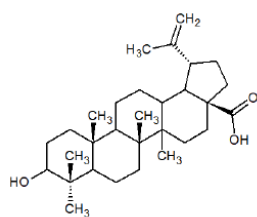
21



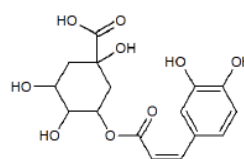
22



23



24



25

4.3 Atividades biológicas de *R. officinalis* L.

OLIVEIRA *et al* (2019), identificaram atividade hipoglicemiante, antiespasmódica e anticancerígena para o extrato etanólico das folhas empregando modelos *in vitro*. O mesmo estudo, identificou a atividade inibitória da 5-lipoxigenase e consequente supressão da resposta pró-inflamatória para o carnosol (**16**) e o ácido carnósico (**11**), ambos isolados do extrato metanólico das folhas da espécie. Os autores também relataram atividade neuroprotetora *in vitro* apresentada associada ao ácido carnósico (**11**). No mesmo estudo, o extrato metanólico, o óleo essencial e o ácido rosmarínico (**12**), apresentaram atividade inibitória, *in vitro*, das enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase. A atividade antioxidante foi identificada para o extrato metanólico, ácido carnósico (**11**), carnosol (**16**) e ácido rosmarínico (**12**) (OLIVEIRA *et al*, 2019).

Os terpenos rosmadiol (**17**) e rosmanol (**14**) possuem atividades antioxidantes e antitumoral, *in vitro*, respectivamente (MALAQUIAS, 2017 apud HEINRICH, 2006; HUSSAIN, 2010). Segundo MALAQUIAS *et al* (2014, apud HUSSAIN *et al*, 2010), os terpenos rosmadiol (**17**) e rosmanol (**14**) apresentam atividade *in vitro* na regulação da expressão de sistemas enzimáticos como apoptose, destruição de células tumorais e regulação de enzimas, como a catalase, superóxido dismutase e glutathione transferase, que metabolizam xenobióticos no fígado.

O ácido carnósico (**11**), *in vitro*, protege os cloroplastos da oxidação, ou seja, retira radicais livres produzidos durante momentos de estresse da planta (MALAQUIAS, 2017). O terpeno carnosol (**16**) apresenta efeito antioxidante mais efetivo do que o antioxidante sintético butil-hidroxi-tolueno (BHT), em estudos *in vivo*, realizados com roedores (MALAQUIAS, 2017).

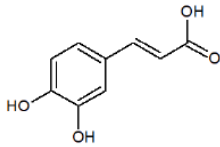
As atividades anti-inflamatórias *in vivo*, foram avaliadas para os ácidos ursólico (**13**) e oleanólico (**15**), os quais interagem com os receptores opioides e 5-hidroxitriptamina, levando

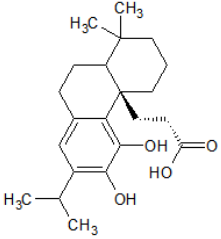
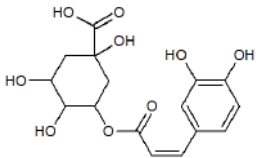
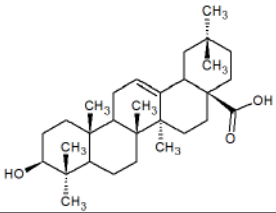
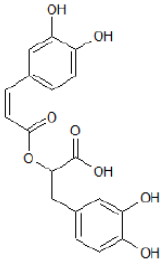
à redução de fatores inflamatórios (OLIVEIRA *et al*, 2019 apud LIU, 2015). O rosmanol (**14**) possui ação anti-inflamatória em estudos *in vivo*, por modulação do receptor GABA nos neurônios do gânglio trigêmeo (OLIVEIRA *et al*, 2019 apud LEE, 2015).

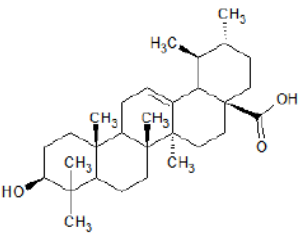
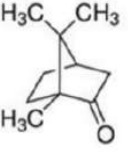
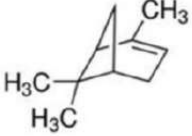
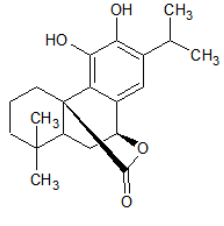
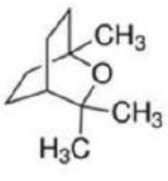
A espécie também apresentou efeito ansiolítico *in vivo*, em roedores submetidos a uma situação estressante, relacionada diretamente com sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória, evitando agentes causadores de inflamação, como fatores de necrose tumoral- α , desnaturação de proteínas e redução dos danos nos neurônios dopaminérgicos e serotoninérgicos (OLIVEIRA *et al*, 2019 apud MOSAYEB *et al*, 2016). A atividade ansiolítica de *R. officinalis* L. foi atribuída à presença de flavonóides como apigenina (**23**), responsável por aumentar o efeito do neurotransmissor GABA, e à luteolina (**22**) que se liga aos receptores do GABA, ativando-os e conseqüentemente, potencializando a sua ação (OLIVEIRA *et al*, 2019).

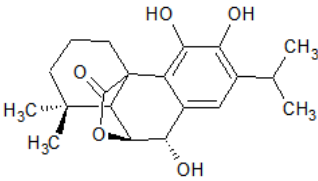
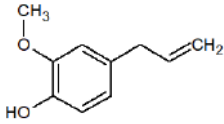
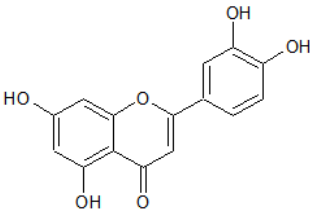
A tabela 2 sintetiza os constituintes químicos isolados de *R. officinalis* L. e suas respectivas atividades biológicas.

Tabela 2: Atividades biológicas e constituintes químicos isolados de *R. officinalis* L.

Produto natural	Atividades biológicas	
	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>
Ácido cafêico 	Antioxidante, anticarcinogênica, (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019), anti-inflamatória (BRANCO, 2019) e redução da obesidade (BRANCO, 2019, apud FARMER, 2006)	Antibacteriana, anticarcinogênica, (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019), anti-inflamatória (BRANCO, 2019) e redução da obesidade (BRANCO, 2019, apud FARMER, 2006).
Ácido carnósico	Proteção das células fotorreceptoras, anticarcinogênica e redução da obesidade (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019).	Antiproliferativa, anticarcinogênica e anti-inflamatória (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019).

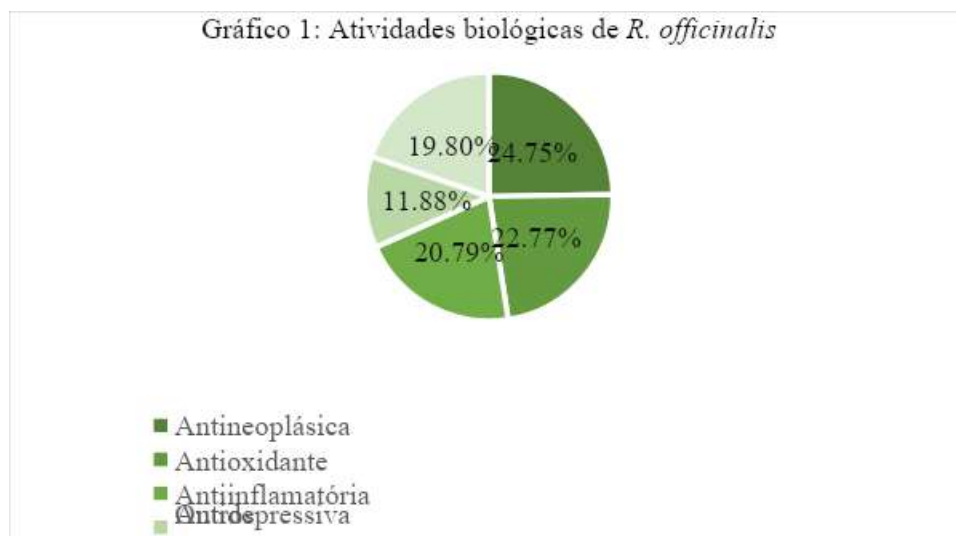
	
<p>Ácido clorogênico</p> 	<p>Antioxidante e protetora renal (danos induzidos por chumbo) (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019). Proteção contra colite e anti-infecciosa (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019).</p>
<p>Ácido oleanólico</p> 	<p>Antitumoral, antioxidante (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019), antibacteriana, antiparasitária, antihipertensora, antidiabética e anti-inflamatória (CONCEIÇÃO, 2016). Antiviral, antiproliferativa e antioxidante (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019).</p>
<p>Ácido rosmarínico</p> 	<p>Antioxidante (SILVA <i>et al</i>, 2011) e anti-inflamatória (SILVA <i>et al</i>, 2012); Antiaterosclerótica (induzida por nicotina) anticarcinogênica, ansiolítica, antiproliferativa e antiviral (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019).</p>
<p>Ácido ursólico</p>	<p>Protetora contra nefropatia diabética, redutor de ganho de peso e antiaterosclerótico (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019). Anticarcinogênica, antiaterosclerótico (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019), hepatoprotetora, anti-inflamatório, antidiabético,</p>

	antibacteriano, antiviral e antiulceroso (CONCEIÇÃO, 2016).	
<p>Alfa-pineno</p> 	Antiulceroso (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019).	Antibacteriano e antioxidante (induzido por aspirina) (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019).
<p>Cânfora</p> 	Imunomoduladora (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019).	Antiproliferativa, hipoglicemiante e antimicrobiana (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019).
<p>Carnosol</p> 	Antidiabética (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019).	Antiproliferativa, antifúngica e anti-inflamatória (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019).
<p>Eucaliptol</p> 	Antiviral (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019), anti-inflamatória e antiproliferativa (GONÇALVES, 2019 apud SOBRAL <i>et al</i> , 2014).	Antibacteriana, anti-infecciosa, anti-inflamatória e antinociceptivo (OLIVEIRA <i>et al</i> , 2019).

<p>Rosmanol</p> 	<p>Antinociceptiva, antidepressiva e ansiolítica (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019).</p>	<p>Antinociceptiva, antidepressiva, ansiolítica e anticarcinogênica (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019).</p>
<p>Eugenol</p> 	<p>Anti-inflamatória e antioxidante (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019).</p>	<p>Antifúngica, quimioterapêutica (câncer cervical) e antiproliferativa (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019).</p>
<p>Luteolina</p> 	<p>Antiosteoporótica e antidepressiva (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019).</p>	<p>Anti-inflamatória, antibacteriana, antiproliferativa, proteção da micróglia (toxicidade induzida por rotenona) e antiosteoporótica (OLIVEIRA <i>et al</i>, 2019).</p>

Fonte: produzido pelo autor (adaptado de OLIVEIRA *et al*, 2019), 2020.

O presente estudo irá abordar as atividades anticancerígenas, anti-inflamatórias, antioxidantes e antidepressivas relatadas em estudos primários *in vitro* e *in vivo* de *R. officinalis* L.. O gráfico 1 sintetiza a prevalência das atividades biológicas para *R. officinalis*, de acordo com o número total de trabalhos consultados.



Fonte: Elaborado pelo autor (2021).

4.3.1 Atividade anticarcinogênica

4.4.1.1 Carcinogênese – breve revisão:

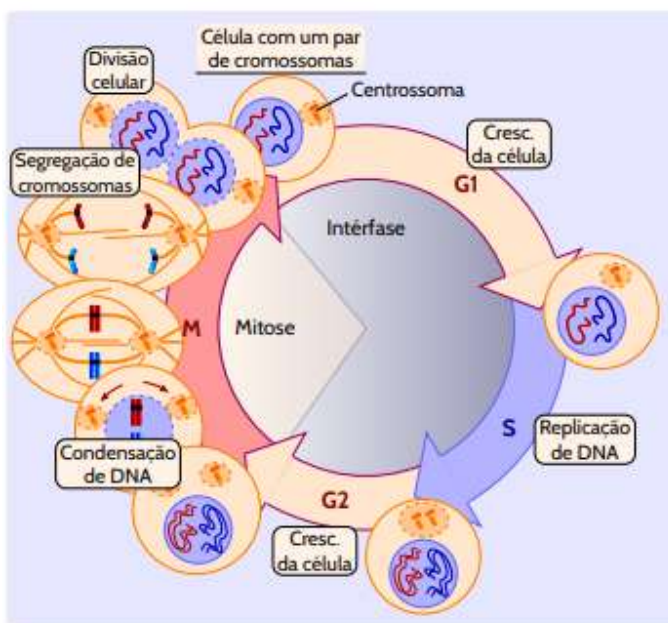
As células saudáveis possuem mecanismos que regulam a produção e liberação de fatores de crescimento, que irão garantir a homeostase do organismo. Já as células cancerígenas possuem sinais descontrolados, ou seja, a homeostase no interior destas células é interrompida, fatores de crescimento são liberados e, elas se proliferam de maneira desordenada. Além disso, as proteínas de superfície destas células podem se encontrar aumentadas, levando a uma hiper responsividade aos fatores de crescimento (MOORE *et al*, 2016).

Segundo SOUZA (2018), o ciclo celular de uma célula saudável pode ser dividido em duas etapas, a primeira onde a célula cresce e se prepara para a divisão (interfase), e a segunda onde ocorre de fato a divisão do núcleo (mitose) seguido de divisão do citoplasma. A fase G1 é caracterizada pelo início do processo de crescimento da célula, com síntese por volta de 80% de todo o RNAríbossômico. Na fase G1, a célula pode continuar o processo do ciclo celular ou entrar no estado quiescente (G0), sendo essa decisão baseada em fatores extracelulares.

A fase S do ciclo celular é marcada pelo início da síntese do DNA, a qual é regulada por enzimas e a partir do momento em que as células iniciam a fase S, não há possibilidade de interromper o ciclo celular. A fase G2 é o preparo da célula para início da mitose, não se sabe

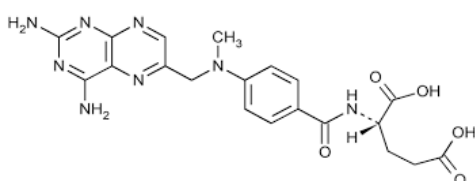
ao certo todo o processo que ocorre nesta fase, mas sabe-se que é necessário que o DNA esteja replicado e que os possíveis danos ao mesmo tenham sido reparados. A última fase do ciclo celular é a mitose, onde o conteúdo celular já está replicado e ocorre então a repartição da célula-mãe originando duas células filhas (Figura 1) (SOUZA, 2018).

Figura 1: Ciclos da divisão celular

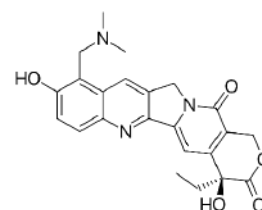


Fonte: LIMA, 2016.

Compostos com atividade antineoplásica podem agir nas diferentes fases do ciclo celular, os inibidores de CDK 4/6 (abemaciclibe) atuam nas fases G1 a S, o metotrexato (**26**), e o topotecano (**27**) são específicos e agem na fase S. Os alcalóides vimblastina (**1**), vincristina (**2**) e o paclitaxel (**28**) atuam na fase M e ainda há fármacos que são inespecíficos como a carboplatina (**29**), um exemplo de agente alquilante. A figura 2 ilustra o sítio de ação para diferentes classes de fármacos no ciclo de divisão celular (BRUNTON, 2019).



26



27

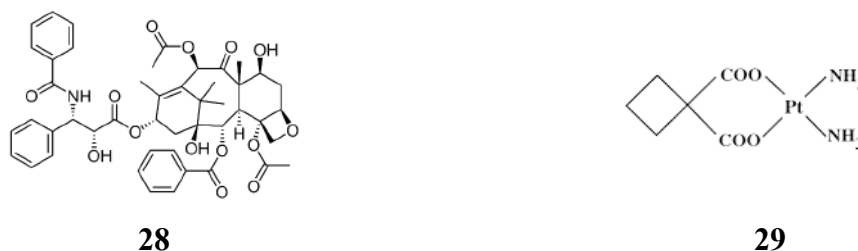
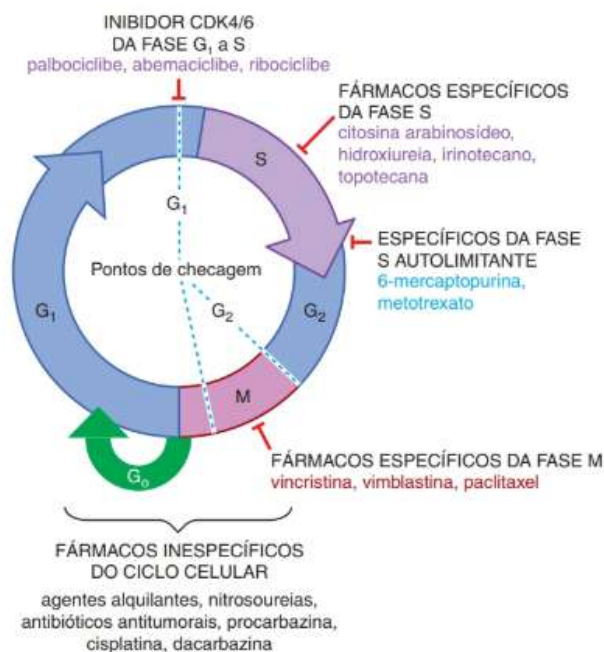


Figura 2: Sítio de ação de diferentes classes de anticancerígenos no ciclo de divisão celular



Fonte: BRUNTON (2019).

As células cancerígenas podem alterar as vias de sinalização para as células vizinhas, acarretando em estimulação dos fatores de crescimento (TFG). Estes receptores possuem atividade intrínseca da tirosina quinase (TK), a qual quando ativada, ocasiona autofosforilação do receptor. Seus resíduos fosforilados atuam como locais de acoplamento para proteínas intracelulares, contendo domínios Src-homologia 2 (SH2), que conseqüentemente, estimulam a cascata de sinalização intracelular. Essa sinalização ativa a fosfatidilinositol 3-cinase (PI3K-Akt) resultando na proliferação e inibição da apoptose (MOORE *et al*, 20016).

O desenvolvimento do câncer é dividido em três etapas que são denominadas como: iniciação, promoção e progressão. A iniciação é a mudança da composição genética da célula, a promoção é a permissão dos fatores de crescimento para que a célula cancerígena se multiplique e, a progressão consiste no desenvolvimento da doença, ou seja, na sinalização de células saudáveis pela célula cancerígena (MOORE *et al*, 20016). As células cancerígenas possuem uma vascularização específica, caracterizada por ser um ambiente de alta pressão de

fluido intersticial, baixa tensão de oxigênio e baixo pH extracelular, resultando em um comprometimento da estrutura e função dos tecidos no qual se encontram (OLIVEIRA *et al*, 20019, apud VAUPEL, 2004).

O tratamento do câncer possui diversas barreiras, como os efeitos colaterais produzidos pela maior parte dos fármacos disponíveis que, atingem não apenas células cancerígenas, mas células saudáveis também. Além disso, a alta pressão de fluido intersticial dificulta o transporte do agente antitumoral para as células cancerígenas, e a deficiência na oxigenação pode inibir o efeito da quimioterapia, prejudicando a eficácia de medicamentos que necessitam da presença de oxigênio. O baixo pH extracelular também pode afetar a absorção de diversos medicamentos, dificultando sua passagem pela membrana celular. Estudos acerca de novos compostos com atividade antineoplásica são de extrema importância visando a eficácia do tratamento e melhor qualidade de vida para os pacientes (OLIVEIRA *et al*, 2019).

O diagnóstico de câncer provém de múltiplos fatores como sinais clínicos, exames laboratoriais e achados laboratoriais de marcadores tumorais (moléculas presentes no tumor, no sangue e em outros líquidos biológicos; seu surgimento está relacionado com o aparecimento e crescimento de células neoplásicas) (ARAÚJO, 2013 apud SILVEIRA, 2005). Os marcadores podem ser classificados como antígeno oncofetais, enzimas e insoenzimas, hormônios e seus receptores, glicoproteínas e mucinas e marcadores genéticos (ARAÚJO, 2013).

Os marcadores enzimáticos mais utilizados na clínica são o lactato desidrogenase (LDH), enolase Neuro-Específica (NSE), fosfates ácida prostática (PAP), fosfatase alcalina (ALP), fosfatase alcalina placentária (PLAP), antígeno prostático específico (PSA), timidilato sintetase (TS), creatinina fosfoquinase BB (CPK-BB), gama glutaril transferase (GGT), tripsina e amilase (ARAÚJO, 2013). Os marcadores bioquímicos, classificados como hormônios, são denominados de calcitonina, tireoglobulina, catecolaminas, hormônio adrenocorticotrópico (ACTH), proteína relacionada ao paratormônio (PTHrP) e serotonina. Entre os marcadores genéticos, utilizam-se na clínica o gene HER-2-neu e o p53. Ainda há marcadores, envolvidos com o mecanismo de regulação do ciclo celular como o NPM22 e os envolvidos no câncer de mama como BRCA 1 e BRCA 2 (ARAÚJO, 2013).

4.4.1.2 Atividade anticarcinogênica *in vitro* para extratos de *R. officinalis*

OLIVEIRA *et al* (2019), avaliaram a atividade antineoplásica *in vitro* do extrato glicólico das folhas de *R. officinalis* L. em diferentes linhagens celulares. Células de

adenocarcinoma de mama (MCF-7) e adenocarcinoma cervical (HeLa), foram cultivadas em microplacas por 24h e expostas a diferentes concentrações (25, 50 e 100 mg/mL) do extrato por 5 minutos. Observou-se que a concentração de 100 mg/mL do extrato interrompeu o desenvolvimento das células tumorais, com danos ao DNA, sugerindo uma baixa viabilidade celular. Para a concentração de 50 mg/mL, observou-se uma redução da viabilidade celular, porém, ainda houve crescimento de células cancerígenas, já na concentração de 25 mg/mL não houve inibição do crescimento das células cancerígenas.

Células epiteliais de adenocarcinoma colorretal (CaCo-2) e linfoma histiocítico (U-937) foram expostas ao extrato das folhas de *R. officinalis* L. nas concentrações de 5, 10, 15, 20 e 25 µg/mL, por 72 horas. Após este período, observou-se que 62% das células expostas as concentrações de 20 e 25 µg/mL, se encontravam na fase S do crescimento mitótico, portanto, tiveram o ciclo de divisão interrompido na presença do extrato (OLIVEIRA *et al*, 2019). Segundo MOORE *et al* (2016), células da linhagem CaCo-2 tiveram suas colônias diminuídas em 90% após incubação com o extrato etanólico das folhas de *R. officinalis* L. na concentração de 30 µg/mL por um período de 24 horas.

Células de câncer de cólon (HGUE-C) quando tratadas com 20 e 40 µg/mL do extrato das folhas, por 72 horas, apresentaram redução dose dependente do crescimento celular de 76,9% e 92,3%, respectivamente. A mesma linhagem de células, quando tratada com o extrato das folhas em concentrações de 30 e 40 µg/mL tiveram inibição da migração celular em 28,8% e 66,1%, respectivamente (PÉREZ-SÁNCHEZ *et al*, 2019).

PÉREZ-SÁNCHEZ *et al* (2019), avaliaram o crescimento de células das linhagens SW480, HT-29 e HGUE-C-1 de câncer de cólon, na presença do extrato das folhas de *R. officinalis* L. Após 24 horas de incubação nas concentrações de 30 e 40 µg/mL, os autores observaram uma redução de 40% das células nas fases G0/G1 e acúmulo de 85% das células nas fases G2/M, para as linhagens SW480 e HT-29, enquanto para a linhagem HGUE-C-1 observou-se um aumento de 10% das células na fase subG1, sugerindo o potencial do extrato na inibição da replicação de células cancerígenas.

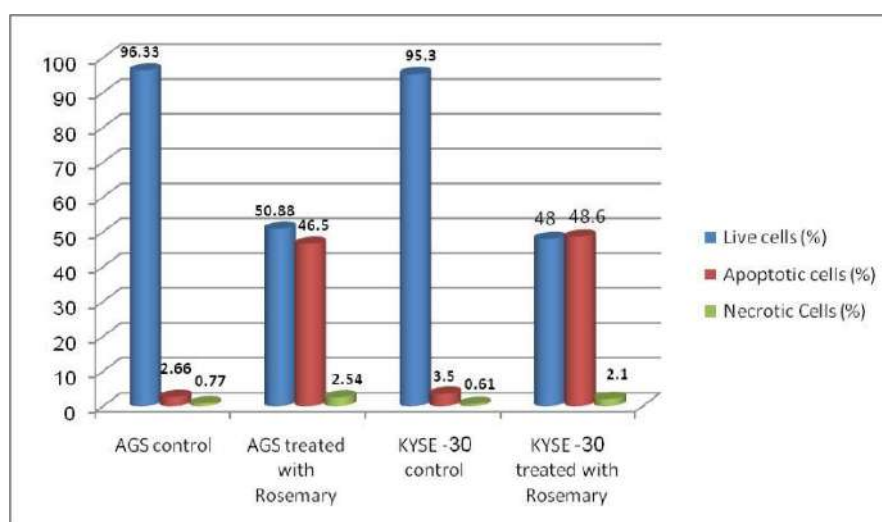
Linhagens celulares de carcinoma espinocelular de esôfago (KYSE30) e adenocarcinoma gástrico (AGS) foram expostas ao extrato aquoso das folhas de *R. officinalis* L. por 24, 48 e 72h. Observou-se maior atividade para as células AGS, com valores de IC_{50} 75% menores que a linhagem KYSE30, no entanto, as células das duas linhagens apresentaram, fragmentação e condensação do núcleo e cromatina, aumentando as células apoptóticas (OLIVEIRA *et al*, 2019).

OLIVEIRA *et al* (2019), observaram a estagnação do número de células tumorais, inibição da fosforilação de AKT e consequentemente, redução da proliferação e sobrevivência das células A549 (carcinoma de pulmão). A linhagem de células A549, teve sua proliferação reduzida em 60,7 % quando exposta a 2,5 µg/mL do extrato das folhas de *R. officinalis* L e 98,8% quando exposta a 10 µg/mL do extrato por 72 horas.

O extrato bruto das folhas nas concentrações de 2 a 250 mg/mL apresentou um efeito citotóxico para linhagens celulares de AGS após incubação por 24, 48 e 72 horas, com valores de meia vida de 4,1; 1,8 e 1,3 mg/mL respectivamente. Para a linhagem celular KYSE30 observaram-se valores de meia vida de 600, 180 e 150 mg/mL após incubação por 24, 48 e 72 horas respectivamente, apontando uma redução da meia-vida dessas linhagens (KARIMI *et al*, 2017).

A incubação das células AGS e KYSE-30 com o extrato das folhas nas concentrações de 2 a 250 mg/mL, por 24 horas, ocasionou a fragmentação e condensação do núcleo e da cromatina com formação de corpos apoptóticos, além disso, foi possível observar também que o efeito é dose dependente, com um aumento do número de células na fase G2/M e diminuição na fase G1 (KARIMI *et al*, 2017). A figura 3 mostra a indução da apoptose em células das linhagens AGS e KYSE-30.

Figura 3: Indução da apoptose em células de AGS e KYSE-30 quando expostas ao extrato das folhas de *R. officinalis*



Fonte: KARIMI *et al* (2017).

MOORE *et al* (2016), observaram que o extrato das folhas de *R. officinalis* L., nas concentrações de 6,25 à 50 µg/mL, por 48 horas, inibem a viabilidade de células MCF-7

(adenocarcinoma de mama), reduzindo a meia vida em 20,42 $\mu\text{g/mL}$. Segundo o mesmo estudo, os resultados de meia vida podem ser diferentes de acordo com o método de extração empregado, o que justifica a meia vida da mesma linhagem ser de 9,95 $\mu\text{g/mL}$ quando exposta a concentração de 62,5 $\mu\text{g/mL}$, por 48 horas (MOORE *et al*, 2016).

Segundo GONZÁLEZ *et al* (2015), as linhagens celulares ER+, HER2+ e TN apresentam sensibilidade ao extrato das folhas de *R. officinalis*, obtido por extração com fluido supercrítico. Após incubação com o extrato nas concentrações de 1-120 $\mu\text{g/mL}$, por 48 horas, observou-se uma diminuição da viabilidade celular. No mesmo estudo, foi possível observar o aumento da eficácia do anticorpo monoclonal e de medicamentos como paclitaxel e tamoxifeno.

Células de câncer de pulmão (A549) tiveram sua proliferação diminuída após a incubação com o extrato das folhas de nas concentrações de 2,5 a 200 $\mu\text{g/mL}$ por 72 horas. Observou-se uma inibição da proliferação de 71% na concentração de 2,5 $\mu\text{g/mL}$, para as concentrações acima de 50 $\mu\text{g/mL}$ não houve inibição adicional. O mesmo estudo também observou a inibição da fosforilação das células Akt e, conseqüentemente, diminuição da síntese e proliferação de proteínas após incubação com o extrato nas concentrações de 25 e 50 $\mu\text{g/mL}$ (MOORE *et al*, 2016).

O extrato das folhas de *R. officinalis* L. nas concentrações de 20, 40 e 60 $\mu\text{g/mL}$ mostrou-se capaz de modular sistemas antioxidantes intracelulares, com ativação de fatores de transcrição nuclear como NRF2 e aumento da concentração de glutathiona, sendo este acúmulo maior na forma reduzida (GSH) quando comparada a sua forma oxidada (GSSG), no entanto, os autores não conseguiram estabelecer uma relação entre essa atividade e o efeito antitumoral (GONZÁLEZ-VALLINAS *et al*, 2014).

MOORE *et al* (2016, apud OKUMURA *et al*, 2016) demonstraram que 50 $\mu\text{g/mL}$ do extrato das folhas de *R. officinalis* L. ocasionou uma parada da divisão das células cancerígenas, impedindo a proliferação. Observaram também, o aumento de 30% do gene 2 relacionado ao retinoblastoma (Rb2), responsável por regular o início da divisão celular, retardando assim o crescimento celular.

As linhagens celulares de câncer de cólon, pâncreas, mama e pulmão expostas a 60 $\mu\text{g/mL}$ do extrato das folhas de *R. officinalis* L. apresentaram aumento da clivagem da polimerase poli ADP ribose (PARP), aumentando em 40% a apoptose das células (MOORE *et al*, 2016). Esse aumento na apoptose pode ser explicado devido ao acúmulo de nitrato e produção de TNF α nas células cancerígenas, levando à morte celular. A indução da apoptose de células por estresse reticular endoplasmático, sugere o envolvimento da translocação do

fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2(Nrf2) no núcleo e indução da atividade MAPK e PERK da p38 (MOORE *et al*, 2016).

Estudos realizados em células de insulina de ratos (RINm5F), demonstraram redução de 91% da proliferação e viabilidade das células e aumento de 120% da apoptose quando expostas ao extrato das folhas de *R. officinalis* L., por 24 horas, nas concentrações de 25 µg/mL e 50 µg/mL, respectivamente, devido ao acúmulo de nitrato e produção de TNF α (MOORE *et al*, 2016 apud KONTOGIANNI *et al*, 2012).

4.4.1.3 Atividade anticarcinogênica *in vivo* para extratos de *R. officinalis*

Segundo MOORE *et al* (2016, apud GONZÁLEZ *et al*, 2013) a administração do extrato das folhas na concentração de 1 mg/mL por 35 dias, em camundongos enxertados com células de câncer de cólon da linhagem SW620, resultou em diminuição de 50% no tamanho do tumor devido a regulação negativa do modulador epigenético miR-15b.

Camundongos tratados com o extrato de folhas de *R. officinalis* L. (obtido por extração com azeite de oliva), na concentração de 100 mg/kg/dia apresentaram redução de 80% do tamanho do tumor do câncer de colón (HCT116) quando comparados com o controle. Os pesquisadores sugerem que esta redução ocorreu pelo aumento da atividade de Nrf2 (p<0,003) (YAN *et al*, 2015). MOORE *et al* (2016 apud Petiwala *et al*, 2014), empregando o mesmo extrato oleoso em camundongos xenoenxertados com células cancerígenas de próstata (22RV1), na concentração de 100 mg/kg/dia também observaram redução de 46% do volume do tumor.

Camundongos com câncer de cólon induzido por dietilnitrosanina (DEN) apresentaram alterações nas proteínas moduladoras de morte celular como citocromo C, proteínas de morte celular programada 4 (PCDP4), antígeno carcinoembrionário (CEA) e antígeno específico do câncer de cólon após serem alimentados com 166mg/Kg por 4 meses do extrato das folhas secas de *R. officinalis* L.. Os autores sugerem que tais alterações indicam atividade antiproliferativa da espécie, levando a dificuldade de crescimento da célula. (MOORE *et al*, 2019 apud AHMAD, *et al*, 2013).

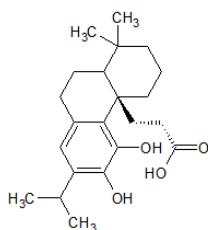
A administração oral do extrato etanólico na concentração de 100mg/kg, em camundongos, não alterou o potencial proliferativo do tumor sólido de Ehrlich, bem como o padrão histológico do tumor. A concentração utilizada pelo estudo não foi capaz de induzir a supressão do crescimento tumoral (GUILARDUCCI *et al*, 2016). Estudos realizados em ratos com 7,12- Dimetilbenzeno (DMBA), potente carcinógeno, demonstraram que ratos expostos a

1% do extrato das folhas de *R. officinalis* L. apresentaram redução de 47% dos tumores mamários, além disso, o extrato inibiu em média 42% das ligações do DMBA ao DNA das células epiteliais (SANTOS, 2019, apud SEREITI, AMER e SEM, 1999).

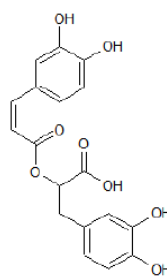
4.4.1.4 Atividade anticarcinogênica *in vitro* para os constituintes isolados de *R. officinalis*

O ácido carnósico (**11**) nas concentrações de 1 e 10 μM , *in vitro*, em células da linhagem HT-29, inibiu a viabilidade das células em aproximadamente 40% e 60%, respectivamente após redução de 50% da fosforilação dos reguladores de sobrevivência AKT e Bcl-xL, além de promover a parada do ciclo celular pela inibição da ciclina D1 e CDK4 (MOORE *et al*, 2016 apud KIM *et al*, 2014).

O ácido rosmarínico (**12**) a 10 μM , isolado de *R. officinalis* L., induziu a apoptose das células do câncer de cólon HCT15 e CO115 reduzindo os níveis da proteína responsável pela proliferação celular, a ERK fosforilada, em 50% aproximadamente. Observou-se também a redução em 88% da atividade da metiltransferase, com consequente inibição da hipermetilação do DNA e parada de mutações, no tratamento das células de câncer de mama MCF-7 (MOORE *et al*, 2016 apud XAVIER *et al*, 2009).



11

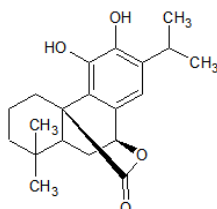


12

KASHYAP *et al* (2016), utilizando células humanas de câncer de cólon (Caco-2), demonstraram que 50 μM de carnosol (**16**), suspendeu o ciclo celular na fase G2M, outros estudos também obtiveram os mesmos resultados, como VASACJI *et al* (2006) e JOHNSON *et al* (2011). Os autores sugerem que o carnosol (**16**) atua nas células desregulando a proliferação celular, ciclinas e cinases, além de regular positivamente os inibidores da CDK do ciclo celular e na sobrevivência celular, aumentando a apoptose.

No estudo *in vitro* realizado com a linhagem celular de leucemia para avaliação do carnosol (**16**) nas concentrações de 3,6 e 9 mg/mL, observou-se o aumento da porcentagem de

morte celular em 40 e 75%, respectivamente. O carnosol (**16**) também afetou proteínas pró-proliferativas e pró-sobrevivência como a AMPK, levando a alterações pró-apoptóticas com redução de 34% da proteína BCL2, perda de DNA nuclear, externalização de células fosfatidilserina de membrana e despolarização das membranas mitocondriais. (KASHYAP *et al*, 2016, apud DORRIE *et al*, 2001).



16

4.4.1.5 Atividade anticarcinogênica *in vivo* para os constituintes isolados de *R. officinalis*

Em células de glioblastoma, o carnosol (**16**) na concentração de 20 μ l dissociou a proteína P53 do seu inibidor MDM2, aumentando a concentração de p53 livre, levando ao bloqueio do ciclo celular e indução da apoptose das células cancerígenas (KASHYAP *et al*, 2016, apud GIACOMELLI *et al*, 2016). Os autores sugerem que o carnosol (**16**) atua em diferentes proteínas responsáveis pelo ciclo celular, alterando a sua concentração (Figura 4).

Figura 4: Ação do carnosol na modulação do ciclo de multiplicação celular

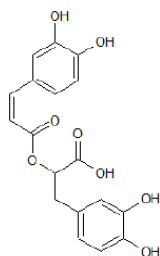
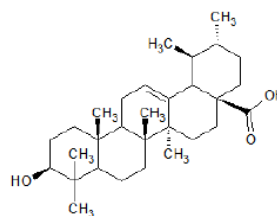


Fonte: KASHYAP *et al* (2016).

Segundo KASHYAP *et al* (2016 apud LÓPEZ-JIMÉNEZ *et al*, 2011), o carnosol (**16**) na concentração de 5 mg/mL foi capaz de inibir *in vivo* a migração de linhagens de células tumorais endoteliais da aorta bovina (BAECs) e da veia umbilical humana (HUVECs), em 35% retardando o processo de angiogênese. O diterpeno também inibiu a invasão do melanoma em camundongos por feedback negativo da expressão de MMP-9 e MMP-2, com a supressão da fosforilação de quinases. Na linhagem de células MDA-MB-231, o carnosol (**16**) ainda na concentração de 5 mg/mL, inibiu a hipoacetilação de proteínas histonas H3 e H4, levando ao efeito antineoplásico do extrato das folhas de *R. officinalis* L. (KASHYAP *et al*, 2016).

Amostras de soro colhidas de camundongos tratados com 1 e 10 μ M de ácido carnósico (**11**) mostraram níveis reduzidos nos tecidos, de insulina ($p < 0,001$), leptina ($p < 0,001$), IGF-1 ($p < 0,0001$) e adiponectina ($p < 0,009$) observou-se também a redução dos receptores associados de insulina e leptina, e a expressão das ciclinas D1 e Bcl-cL que regulam a sobrevivência celular em aproximadamente 17%. Estes dados demonstram a atividade antineoplásica do triterpeno, visto que a redução destes fatores leva a menor sobrevivência das células neoplásicas (MOORE *et al*, 2016 apud KIM, *et al*, 2014).

A administração de 0,5; 1,0 e 1,35 mg/Kg do ácido rosmarínico (**12**), em camundongos, diminuiu cerca de 33% da atividade da mieloperoxidase e induziu a COX-2, apresentando redução de espécies reativas de oxigênio nos animais. Essas espécies reativas de oxigênio podem induzir a formação de cânceres (MOORE *et al*, 2016 apud OSAKABE *et al*, 2004). MOORE *et al* (2016, apud XU *et al*, 2010) observaram que o uso de 1 a 4 mg/Kg de ácido rosmarínico (**12**), durante 20 dias em camundongos com carcinoma de pulmão levou à redução de 70% da viabilidade dessas células, inibindo a formação de metástases nos camundongos.

**12****13**

4.4.2 Atividade anti-inflamatória

4.4.2.1 Inflamação - breve revisão:

A inflamação é um evento natural do organismo, que se inicia após o reconhecimento do agente ou estímulo lesivo e, desencadeia uma cascata de eventos celulares e microvasculares. O processo inflamatório tem a finalidade de eliminar a causa inicial da lesão, sendo caracterizado pelos sinais cardinais da inflamação: rubor, edema, calor, dor e diminuição ou perda de função (AMARAL, 2016 apud BISWAS, 2016; AMARAL, 2016 apud COUTINHO *et al*, 2009).

A resposta inflamatória é classificada em aguda ou crônica. Na resposta inflamatória aguda, após a lesão tecidual, é ativada uma cascata enzimática do sistema de coagulação com produção de filamentos de fibrina, que se acumulam formando coágulos. A cascata enzimática leva à liberação de bradicinina (peptídeo responsável por vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular), histamina, prostaglandinas e leucotrienos. Algumas horas após a lesão inicial, os neutrófilos se ligam aos receptores endoteliais e extravasam no tecido, recrutando macrófagos através de mediadores inflamatórios, como proteína inflamatória do macrófago (MIP) 1 α e 1 β (BRUNTON, 2019).

Os macrófagos atingem o tecido lesionado cerca de 5 a 6 horas após início da resposta inflamatória, secretando três citocinas pró-inflamatórias: interleucina-1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). As citocinas pró-inflamatórias induzem a coagulação, aumentam a permeabilidade vascular e promovem a resposta da fase aguda. A inflamação aguda se caracteriza por início após a lesão e resolução relativamente rápida (BRUNTON, 2019).

A resposta inflamatória crônica resulta da exposição contínua ao elemento agressor, podendo ser por persistência de patógenos, doenças autoimunes ou cânceres. A principal característica da inflamação crônica é o acúmulo e ativação de macrófagos e linfócitos. Além de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, a inflamação crônica possui espécies reativas de oxigênio (ROS). A lesão crônica leva a formação de fibrose, por fibroblastos, que devido a cronicidade, será em excesso e interferirá na funcionalidade daquele tecido (BRUNTON, 2019).

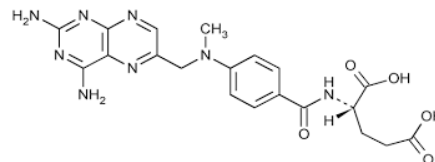
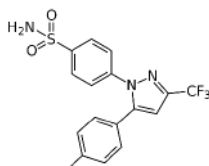
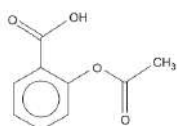
A ação das enzimas ciclo-oxigenases 1 e 2 (COX-1 e COX-2), é sintetizar prostaglandinas, prostaciclina e tromboxanos (FUCHS, 2017). A ativação da fosfolipase A2,

permite que os fosfolipídios de membrana liberem o ácido araquidônico para ser metabolizado pela COX ou pela lipo-oxigenase. Através da COX, ocorre a síntese de prostaglandinas (PGE_2) com efeito vasodilator. As lipo-oxigenases sintetizam leucotrienos que possuem atividade quimiotática para leucócitos ocasionando produção de superóxidos e dano tecidual (AMARAL, 2016 apud COUTINHO *et al*, 2009).

As citocinas são moléculas hidrossolúveis de composição glicoproteica ou polipeptídica, extracelulares. São responsáveis pela comunicação entre as células, relacionadas às funções de crescimento, diferenciação e ativação celular. As citocinas IL-7, IL-9 e IL-17a estão relacionadas com a atividade dos linfócitos T e B. A interleucina-7 (IL-7), é responsável por estimular a proliferação de células precursoras de linfócitos B e maturação de megacariócitos. Já a interleucina-9 (IL-9), estimula a proliferação de células $TCD4^+$, que por sua vez, leva à produção de IL-17a (OLIVEIRA *et al*, 2019).

Os fármacos presentes no mercado são classificados de duas maneiras, anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) e anti-inflamatórios esteroidais (AIES). Os anti-inflamatórios não esteroidais inibem a COX-1 e a COX-2. A inibição da COX-1 pode levar a danos gástricos ou disfunção renal em pacientes sob risco, pois é uma enzima constitutiva na maioria de células e tecidos, com funções citoprotetoras nos rins e mucosa do estômago (FUCHS, 2017). A COX-2, apresenta a mesma estrutura proteica primária da COX-1, porém, é induzida apenas nos processos inflamatórios, sendo encontrada em macrófagos, monócitos, sinoviócitos e também em alguns órgãos como rins, ovário e endotélio vascular. A inibição da COX-2 reduz apenas os mediadores inflamatórios, sendo mais efetiva e mais segura quando comparadas aos anti-inflamatórios não seletivos (BECHAAALANI *et al*, 2017).

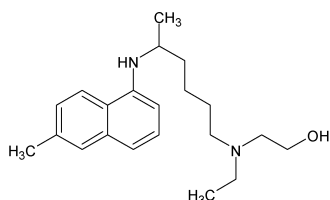
Os anti-inflamatórios não esteroidais, atuam principalmente como inibidores das enzimas ciclo-oxigenases que catalisam o primeiro estágio da biossíntese de prostanoides. A inibição das ciclo-oxigenases, leva à redução de prostaglandinas, ocasionando efeitos desejáveis como, antipirético e redução de edema e efeitos indesejáveis como o desconforto gástrico. Os fármacos mais conhecidos da classe dos AINES são o ácido acetilsalicílico (**30**), celecoxibe (**31**), metotrexato (**26**), hidroxiclороquina (**7**) e paracetamol (**32**). O celecoxibe é um inibidor seletivo da COX-2 e, por este motivo, possui menos efeitos adversos (WHALEN, 2016).



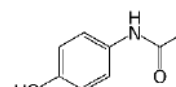
30

31

26



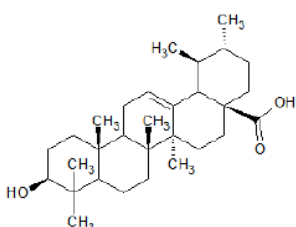
7



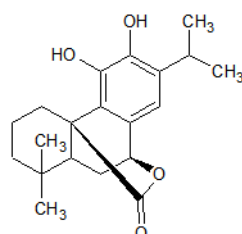
8

Anti-inflamatórios esteroidais, também conhecidos como corticoides, são hormônios que possuem um núcleo esteroide constituído de quatro anéis, com 17 átomos de carbono que remetem ao seu precursor, o colesterol. Os glicocorticoides mais utilizados na clínica são a hidrocortisona, a prednisolona, a metilprednisolona e a dexametasona. O uso oral de tais medicamentos induz diversos efeitos adversos sistêmicos severos, associados às ações catabólicas dos glicocorticoides em tecidos mesenquimais, como atrofia da pele, fraqueza muscular e osteoporose (BRAGHIROLI, 2017 apud DE BOSSCHER *et al*, 2010).

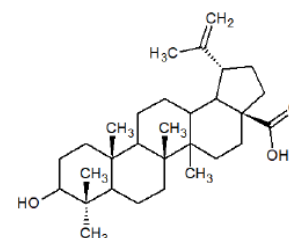
A espécie *R. officinalis* L. possui atividade anti-inflamatória comprovada por inúmeros estudos, em modelos *in vitro* e *in vivo*. A capacidade da espécie de controlar a produção de alguns elementos relacionados à inflamação como citocinas, fatores de crescimento, óxido nítrico e prostaglandinas, além de sua ação direta sobre a migração de células de defesa foi atribuída à sua composição química (OLIVEIRA, 2016). A presença de compostos fenólicos, carnosol (**16**), ácido betulínico (**24**) e ácido ursólico (**13**) tem mostrado relação com a atividade anti-inflamatória da espécie relacionada à inibição de leucócitos, enzimas pró-inflamatórias e seus mediadores (FLOREZ, 2019 apud BENINCÁ *et al*, 2011).



13



16



24

4.4.2.2 Atividade anti-inflamatória *in vitro* para extratos de *R. officinalis*

Silva (2015), avaliou o extrato das folhas de *R. officinalis* nas concentrações de 1, 10 e 100 µg/mL em ensaio de quimiotaxia de neutrófilos. As concentrações empregadas não alteraram a viabilidade celular de neutrófilos, no entanto, observou-se uma redução dose dependente da migração dos neutrófilos, sugerindo a ação do extrato nas moléculas de adesão, como integrina L-selectina e β2.

BOWER e colaboradores (2016 apud CHIUNG-HUEI *et al*, 2014), observaram uma redução de 20% na produção de TNF-α e 90% de oxigênio reativo, após 24 horas de incubação com o extrato das folhas, na concentração de 1 µg/mL, seguido de estimulação com lipopolissacarídeos. Não houve interferência no NF-Kβ sugerindo que o efeito anti-inflamatório da espécie não está relacionada com a regulação positiva de NF-Kβ.

Segundo OLIVEIRA e colaboradores (2016), as concentrações de 25, 50 e 100 mg/mL do extrato de *R. officinalis*, em macrófagos RAW264.7, na presença de 1µg/mL de lipopolissacarídeos, proporcionaram a inibição da produção de IL-1β e TNF-α, após 24 horas. (Figura 5).

Figura 5: Efeito do extrato de *R. officinalis* na produção das citocinas pró-inflamatórias IL-1β e TNF- α, na presença ou ausência de lipopolissacarídeos

Grupo (mg / mL)	Citocina (pg / mL)			
	IL-1β		TNF-α	
	no LPS	LPS	no LPS	LPS
0	2,7 ± 5,79 A	20,02 ± 11,17 ^A	19,74 ± 10,99 ^A	8125,46 ± 7305,34 ^A
25	0,91 ± 1,86 ^A	1,02 ± 2,24 ^B	3,65 ± 3,28 ^B	28,60 ± 34,66 ^B
50	1,44 ± 1,99 ^A	1,72 ± 3,63 ^B	3,87 ± 2,66 ^B	16,55 ± 8,86 ^B
100	0,27 ± 0,85 ^A	0 ^B	2,38 ± 2,51 ^B	4,77 ± 4,2 ^B

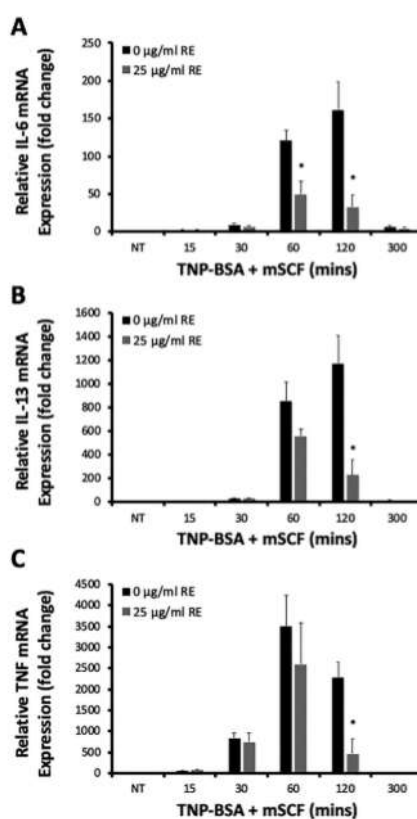
Fonte: OLIVEIRA *et al* (2016).

Células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), foram cultivadas *in vitro* e ativadas para resposta inflamatória com 5 µg/mL de mitogênio, concanavalina A (Con A) por 30 minutos. Em seguida, foram incubadas com o extrato de *R. officinalis* nas concentrações de 10, 50 e 100 µg/mL, visando monitorar a liberação de citocinas pró-inflamatórias. Na concentração de 50 µg/mL do extrato, ocorreu uma redução de 80% nos níveis de IL-6 e na

concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$ houve uma redução de 40%. O mesmo estudo demonstrou redução de 50% na concentração de IL-10 nas células, após tratamento com 100 $\mu\text{g/mL}$ do extrato (ASSAF *et al*, 2016).

Mastócitos extraídos da medula óssea do fêmur e tíbia de camundongos, foram incubados com 25 $\mu\text{g/mL}$ do extrato das folhas de *R. officinalis* por 15, 30, 60, 120 e 300 minutos, após estimulação da inflamação com receptores de IgE. As concentrações de IL6, IL-13 e TNF- α foram reduzidas após exposição ao extrato por 120 minutos, quando comparadas ao grupo controle (Figura 6). Estes resultados demonstram a redução de tais citocinas pró-inflamatórias, indicando o possível mecanismo de ação do extrato (YOUSEF *et al*, 2020).

Figura 6: Expressão gênica pró-inflamatória em mastócitos, após tratamento com extrato de *R. officinalis* na concentração de 25 $\mu\text{g/mL}$



Fonte: YOUSELF *et al* (2020).

4.4.2.3 Atividade anti-inflamatória *in vivo* para extratos de *R. officinalis*

HAMIDPOUR *et al* (2017 apud BENINCÁ *et al*, 2011), avaliaram a ação do extrato das folhas sobre o influxo de leucócitos na resposta inflamatória induzida por carragenina, na cavidade pleural de camundongos. Os resultados mostraram uma redução do número de leucócitos em $36,3 \pm 5,34\%$ e $35,7 \pm 3,87\%$ ($p < 0,01$) após tratamento dos camundongos com o extrato de *R. officinalis*, nas concentrações de 50 e 100 mg/kg respectivamente, quando comparados ao grupo controle.

HAMIDPOUR *et al* (2017 apud BENINCÁ *et al*, 2011) avaliaram as concentrações de mieloperoxidase e o óxido nítrico, substâncias que participam da resposta inflamatória, em camundongos, após um pré-tratamento com o extrato das folhas de *R. officinalis*, na concentração de 50 mg/Kg, 30 minutos antes da administração de carragenina. Os autores observaram uma redução de 52% da concentração dos marcadores inflamatórios.

Em outro trabalho do mesmo grupo de pesquisadores, camundongos foram expostos ao formaldeído, que foi injetado na orelha visando o desenvolvimento de uma inflamação local. Após duas horas, injetou-se o extrato das folhas de *R. officinalis* nas concentrações de 10, 20, 100, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ nos camundongos do grupo teste e água no grupo controle. Nos camundongos tratados com o extrato, observou-se uma redução progressiva do edema em comparação aos do grupo controle, relacionada à redução do número de leucócitos (Tabela 3). A redução do número de leucócitos indica a redução da inflamação ocasionada pelo formaldeído, sugerindo o efeito anti-inflamatório do extrato da espécie (HAMIDPOUR *et al*, 2017 apud MENGONI *et al*, 2011).

Tabela 3: Relação da concentração do extrato das folhas de *R. officinalis* e edema induzido por formaldeído

Dose ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Redução do edema (%)
10	3.9
20	7.8
100	38.2
250	78.9
500	84.3

1000	98.6
------	------

Fonte: HAMIDPOUR *et al* (2017 apud MENGONI *et al*, 2011).

A atividade anti-inflamatória das frações metanólicas e *n*-hexânica obtidas do extrato das folhas de *R. officinalis*, na concentração de 5 µg/mL, foi avaliada sobre macrófagos de camundongos (RAW 264.7), após estimulação da inflamação por lipopolissacarídeos (LPS). Após 24 horas de administração, a fração metanólica inibiu a concentração da enzima óxido nítrico sintetase em 88,31%, porém, não houve interferência na concentração de ciclooxigenase 2 (COX-2). A fração hexânica, reduziu em 12% a concentração da ciclooxigenase 2 (COX-2), com conseqüente redução das prostaglandinas sintetizadas e do fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) sugerindo a resolução da inflamação (OLIVEIRA, 2016 apud YU *et al*, 2013).

SILVA (2015), avaliou a atividade do extrato das folhas em camundongos tratados com 400 mg/Kg, após 4 horas de exposição à carragenina. Observou-se uma diminuição da concentração de prostaglandinas (67 % para IL-6 e 70% para TNF-α), resultados semelhantes aos encontrados no tratamento com indometacina na dose de 30 mg/Kg. RAHBARDAR e colaboradores (2017), encontraram resultados semelhantes, após 7 dias de administração do extrato das folhas, na concentração de 40 mg/Kg, via intraperitoneal, observaram redução ($p < 0,001$) na concentração de COX-2, IL-1 β e prostaglandina.

GONÇALVES *et al* (2018), empregaram modelo de indução de resposta inflamatória com complemento Freund em camundongos. Os animais do grupo teste foram tratados com 150 mg/Kg do extrato das folhas de *R. officinalis*, enquanto o grupo controle recebeu 35 mg/Kg de ibuprofeno. O volume das patas foi avaliado nos dias 1, 3, 5, 7, 10, 12, 14, 16 e 18. No 18º dia, o volume da pata do camundongo em que foi injetada a dose de 150 mg/Kg do extrato, foi de 151,2%, enquanto o volume da pata do animal que não recebeu o extrato aumentou 249,3%, sugerindo um atraso na resposta inflamatória do animal que recebeu o tratamento o extrato. O volume das patas dos animais que receberam o tratamento com o extrato de *R. officinalis* foi semelhante ao encontrado para os animais do grupo controle (grupo que recebeu Ibuprofeno). O mesmo estudo mostrou que os camundongos tratados com o extrato de *R. officinalis* e com o anti-inflamatório ibuprofeno, apresentaram retardo no aparecimento das lesões secundárias, com redução do número de leucócitos polimorfonucleares recrutados.

GRISSA *et al* (2017, apud AMARAL *et al*, 2013) trataram camundongos com 5mL/Kg do extrato de *R. officinalis*, após uma hora do tratamento, os camundongos foram

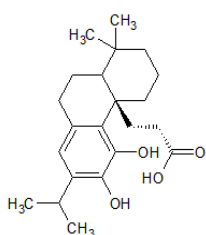
expostos ao óxido de titânio para indução da resposta inflamatória. Após 60 dias, observou-se uma redução de 10% da concentração de IL-6 quando comparado ao grupo controle (que não recebeu tratamento).

Mastócitos da medula óssea de camundongos foram tratados com o extrato das folhas, na concentração de 25 µg/mL, durante a estimulação da inflamação com receptores de IgE, por 1, 3, 6, 12 e 24 horas. Observou-se uma redução da concentração de IL-6, IL-13 e TNF-α em 5%, -sendo o declínio do TNF-α exponencial- após 3 horas de tratamento (fator exponencial de 5%) (YOUSEF *et al*, 2020).

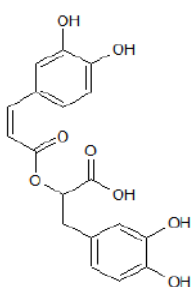
4.4.2.4 Atividade anti-inflamatória *in vitro* para compostos isolados de *R. officinalis*

Células endoteliais HUVECs da veia umbilical humana apresentaram redução dose dependente da expressão de RNAm induzida por lipopolissacarídeos de IL-1β, IL-6 e TNF-α em 25,6%, 24,4% e 30, 4%, respectivamente quando expostas a 30 µM de ácido rosmarínico (**12**), obtido de *R. officinalis* (WANG *et al*, 2017). O ácido rosmarínico (**12**) na concentração de 34 µM foi capaz de alterar a ativação do sistema de complemento, inibindo a ligação de C3b e, conseqüentemente interrompendo a cascata da inflamação (GHASEMIAN *et al*, 2016).

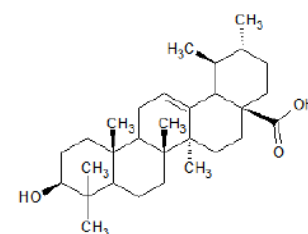
O ácido carnósico (**11**) na concentração de 20 µM reduziu a inflamação mediada por TNF-α em adipócitos 3T3-L1 através da inibição da expressão do RNAm nos genes inflamatórios. Enquanto isso, o ácido ursólico (**13**) foi avaliado em células T, B e macrófagos nas concentrações de 0,25 e 5 µM por 4 horas. Observou-se uma inibição de 10% de tais células que são responsáveis por regular o NF-kβ, reduzindo assim a secreção de IL-1β, TNF-α e IL-6 (HASSANI *et al*, 2016 apud CHECKER *et al*, 2012).



11



12

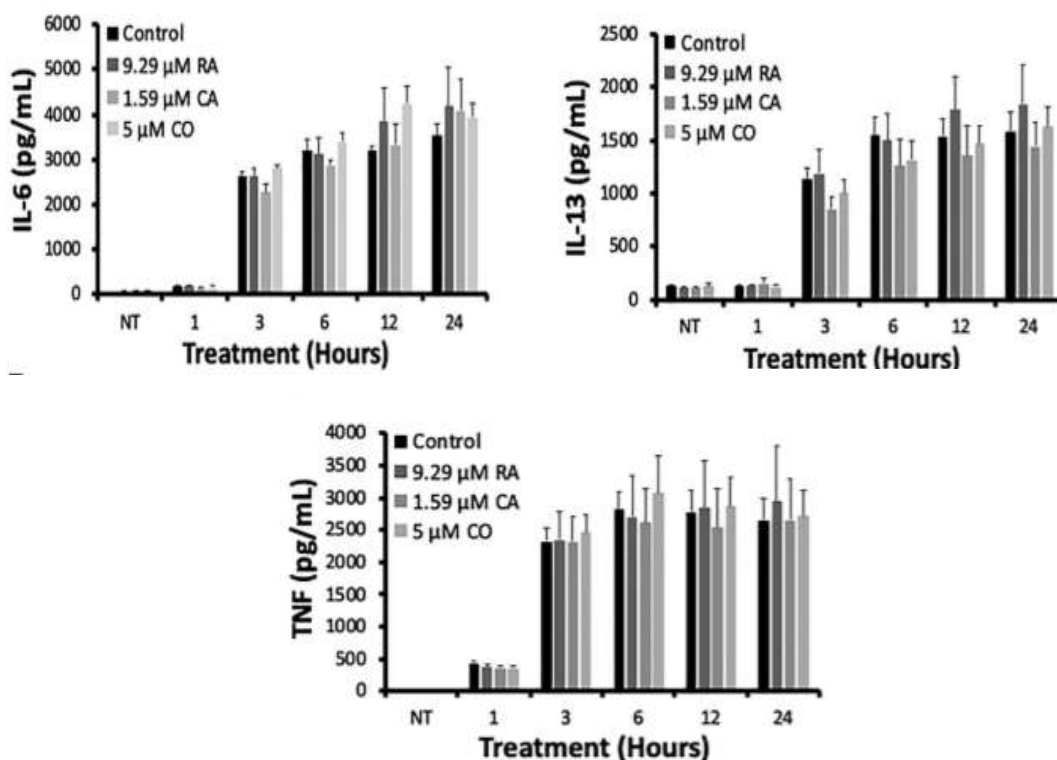


13

YOUSELF *et al* (2020) determinaram as concentrações *in vitro* de IL-6, IL-13 e TNF-α das células dos mastócitos derivados da medula óssea após exposição à 9,29 µM de ácido rosmarínico (**12**) 1,59 µM de ácido carnósico (**11**) e 5 µM de carnosol (**16**). O estudo detectou a presença dos três marcadores inflamatórios após 1, 3, 6, 12 e 24 horas de

incubação, sugerindo que esses compostos não são os responsáveis pelo efeito anti-inflamatório do extrato de *R. officinalis* (Figura 7) (YOUSEF *et al*, 2020).

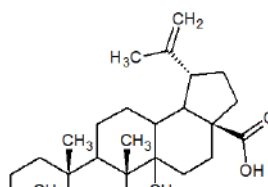
Figura 7: Concentração de IL-6, IL-13 e TNF- α , após incubação com os ácidos carnósico, rosmarínico e carnosol, obtidos de *R. officinalis*

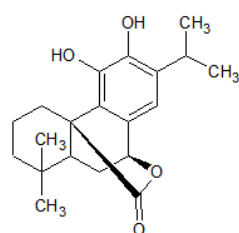


Fonte: YOUSEF *et al* (2020).

4.4.2.5 Atividade anti-inflamatória *in vivo* para compostos isolados de *R. officinalis*

HAMIDPOUR e colaboradores (2017 apud BENINCÁ *et al*, 2011), avaliaram a atividade anti-inflamatória *in vivo* para o carnosol (**16**) e para o ácido betulínico (**24**). Administraram-se 10 mg/Kg de ambos os compostos, via intraperitoneal, 30 minutos antes da indução por carragenina. Ambos os compostos promoveram uma redução dos parâmetros inflamatórios, após 4 horas da indução da inflamação. Para o carnosol (**16**), observou-se uma redução da concentração de leucócito de 58% ($p < 0,01$) e para os neutrófilos 4,94% ($p < 0,05$). Para o ácido betulínico (**24**), observou-se uma redução da concentração dos leucócitos 7,74% ($p < 0,05$) e 28,7 % ($p < 0,05$) de neutrófilos, sugerindo que ambos possuem ação anti-inflamatória (HAMIDPOUR *et al*, 2017 apud BENINCÁ *et al*, 2011).

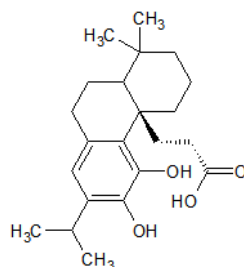




16

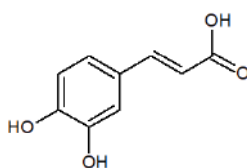
24

O mesmo grupo, em outro trabalho, sugere que o ácido carnósico (**11**) e o carnosol (**16**) são os principais componentes responsáveis pela atividade anti-inflamatória da espécie *R. officinalis*. Os compostos foram administrados nas orelhas de camundongos, nas doses de 2, 10 e 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Os valores de IC_{50} encontrados para o ácido carnósico (**11**) e o carnosol (**16**) foram 10,2 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e 10,7 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectivamente e, a redução do edema de 64,1% e 59,8%, respectivamente, na concentração de 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. A indometacina, utilizada como controle positivo, na concentração de 500 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ apresentou redução do edema de 92,9%, levando a conclusão, que a atividade anti-inflamatória dos compostos ácido carnósico (**11**) e carnosol (**16**) foi nove vezes maior que aos resultados encontrados no controle positivo (HAMIDPOUR *et al*, 2017 apud MENGONI *et al*, 2011).



11

Células pleurais de camundongos expostos à carragenina e tratados com ácido caféico (**10**), nas concentrações de 5 mg/Kg e 10 mg/Kg, mostraram uma redução da migração leucocitária em 66% e 92,9% respectivamente, quando comparados ao grupo controle, que não recebeu tratamento. Os leucócitos são responsáveis pela proteção do organismo contra patógenos e sua redução indica a solução da inflamação (COLICA *et al*, 2018).



10

O tratamento de ratas fêmeas com 1, 5, 10 e 20 μM de ácido carnósico (**11**), durante 24 horas, resultou em um aumento de 5% na concentração de adiponectina, uma proteína plasmática responsável por suprimir TNF- α , reduzindo os efeitos anti-inflamatórios. O estudo sugere que o ácido carnósico (**11**) é capaz de diminuir as citocinas inflamatórias TNF- α , IL-6, IL-12, IL-17 e ativar moléculas de sinalização como AMPK que inibirão NF-K β . (HASSANI *et al*, 2016 apud TSAI *et al*, 2014).

Macrófagos (RAW 264.7) tratadas com 10^{-6}M do ácido rosmarínico (**12**) apresentaram concentrações reduzidas de TNF- α (37,6%) e IL-6 (48,6%), sugerindo que o triterpeno reduz a produção de mediadores pró-inflamatórios. A concentração observada após tratamento com ácido rosmarínico (**12**) foi menor do que a concentração observada no grupo controle (COLICA *et al*, 2018 apud JIANG *et al*, 2009).

4.4.3 Atividade antioxidante

4.4.3.1 Oxidação – breve revisão:

A geração de radicais livres é um processo biológico que está relacionado diretamente com a produção de ATP, mecanismos de defesa e sinalização intracelular (BRANCO, 2019 apud BARBOSA *et al*, 2010). Os radicais livres, são moléculas orgânicas e inorgânicas instáveis e muito reativas quimicamente pela presença de um elétron não- pareado na sua órbita mais externa (BRANCO, 2019).

A produção excessiva de espécies reativas pode ocasionar danos a tecidos e membranas, a partir da sua ligação à diferentes tipos de biomoléculas, resultando em patologias ou agravamento das patologias já existentes (COLOMBO, 2018). As espécies reativas mais comuns no organismo são as espécies reativas de oxigênio (EROs), com o radical hidroxila (OH) e superóxido (O_2) (AMARAL, 2016). A membrana celular é um dos componentes mais atingidos pelas espécies reativas de oxigênio, ocorrendo alterações na sua estrutura, permeabilidade e metabolismo celular. As alterações na membrana ocorrem devido à peroxidação lipídica, caracterizada pela reação em cadeia entre espécies reativas e os ácidos graxos poli-insaturados presentes na membrana (BRANCO, 2019 apud BARREIROS; DAVID, 2006).

Segundo COLOMBO (2018), existem alguns métodos para avaliação da atividade antioxidante dos compostos, como método do ácido tiobarbitúrico, método por redução férrica, método de absorvância pelo radical oxigênio e os métodos utilizando os radicais 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH·) e o 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline)-6 sulfonic acid (ABTS^{•+}), estes dois últimos são os mais utilizados nos estudos por se tratarem de métodos simples e de baixo custo.

Os métodos que utilizam os radicais DPPH e ABTS são métodos colorimétricos, ou seja, apresentam alteração de coloração na redução dos radicais e podem ser lidos na região do ultravioleta e visível (comprimento de onda entre 400 a 800 nm) (COLOMBO, 2018).

A defesa antioxidante do organismo pode ser dividida de duas maneiras, enzimáticas e não enzimáticas. O sistema enzimático envolve enzimas da glutathione: glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GPx) e a glutathione S-transferase (GST) (LEITE, 2019 apud BARREIROS *et al*, 2006). Além das enzimas da glutathione, há também a superóxido dismutase (SOD) e a catalase (CAT) (BRANCO, 2019).

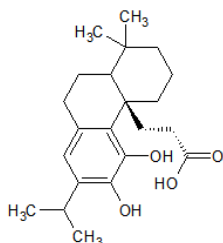
A defesa antioxidante não enzimática é constituída por moléculas endógenas e exógenas naturais ou sintéticas que possuem três propriedades: supressão da formação de radicais livres, eliminação de radicais livres ou desativação das formas reativas por formação de um produto estável. O equilíbrio entre a proteção antioxidante e as espécies reativas é de extrema importância e é denominada como “redox” (AMARAL, 2016).

Os antioxidantes sintéticos possuem o objetivo de inibir a oxidação sendo o butil hidroxianisol (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), galato de propila (PG) e terc-butil-hidroquinona (TBHQ), os mais utilizados na clínica (MORES, 2018 apud SHAHIDI, 2015). Os antioxidantes sintéticos não são a primeira escolha terapêutica pois há relatos na literatura de carcinogenicidade com o emprego de BHA e BHT em animais (MORES, 2018).

A primeira escolha para terapia dos pacientes devido a segurança questionável dos antioxidantes sintéticos, são os naturais. Os antioxidantes naturais são isolados de diferentes partes da planta, como sementes, frutas, folhas e raízes. Os principais metabólitos com atividade antioxidante são os flavonóides, ácidos fenólicos, terpenos e fosfolípidos (LEITE, 2019). Estes compostos são de fácil acesso à população e possuem maior segurança para os pacientes, quando comparados aos sintéticos, no entanto, alguns são instáveis e são necessárias altas concentrações para a atividade desejada (MORES, 2018).

Os extratos de *R. officinalis* L. caracterizam-se por serem ricos em compostos fenólicos, moléculas com anéis aromáticos e substituintes hidroxila (MORES, 2018 apud

BRAVO, 1998). OLIVEIRA e colaboradores (2018), relacionaram a ação antioxidante de *R. officinalis* à presença de isoprenóides, quinonas e diterpenos fenólicos, como, o ácido carnósico (11) (OLIVEIRA *et al*, 2018).



11

4.4.3.2 Atividade antioxidante *in vitro* para extratos de *R. officinalis*

MORES (2018), avaliou a atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *R. officinalis* empregando os métodos inibição do radical DPPH (concentrações de 3,75, 7,5, 15, 30 e 60 µg/mL) e método de inibição do radical ABTS (concentrações entre 0,1875 mg/mL até 3 mg/mL). A molécula de DPPH caracteriza-se por ser um radical livre e coloração violeta (devido ao deslocamento de elétrons). No método de inibição do radical DPPH, a molécula é misturada à solução do extrato e caso este apresente atividade antioxidante, o DPPH assume sua forma reduzida com coloração amarela. O método de inibição do radical ABTS consiste na redução do radical ABTS· à ABTS e essa redução resulta em descoloração do meio reacional, de verde-escuro para verde-claro (MORES, 2018).

Os resultados obtidos pelo método de DPPH foram apresentados em termos de EC_{50} pois estes expressam a concentração mínima necessária para o antioxidante reduzir em 50% a concentração inicial do DPPH. Os valores de EC_{50} são inversamente proporcionais a capacidade antioxidante do composto. Os resultados observados no estudo se encontram na tabela 4 (MORES, 2018).

Tabela 4: Atividade antioxidante dos extratos aquoso e etanólico de *R. officinalis* pelos métodos de DPPH e ABTS

Solvente	EC_{50} (µg/mL)	ABTS (µM TEAC/g)
Extrato aquoso	16,0 ± 0,7	756,9 ± 25,8
Extrato etanólico	12,9 ± 1,1	740,2 ± 7,8

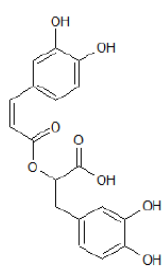
BHT	59,7 ± 1,4	5238 ± 236
-----	------------	------------

Fonte: MORES (2018).

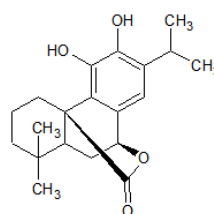
Segundo o autor, a diferença de atividade entre o extrato aquoso e o extrato etanólico de *R. officinalis* se dá principalmente pela diferença na concentração dos compostos presentes em cada extrato. O extrato etanólico possui uma maior concentração de compostos fenólicos, o que reflete sua maior atividade antioxidante (MORES, 2018).

O extrato etanólico das folhas de *R. officinalis* e as frações acetato de etila, diclorometânica e n-butanólica foram testados, nas concentrações de 1 a 300 µg/mL, empregando-se o método de inibição do radical DPPH, o ácido ascórbico, na concentração de 30 µg/mL, foi empregado como controle. (AMARAL, 2016).

Os resultados mostraram uma maior atividade antioxidante para o extrato etanólico comparado às frações de acetato de etila e n-butanólica (Figura 8). Este resultado provavelmente está relacionado à maior concentração de ácido rosmarínico (**12**) e carnosol (**16**) no extrato etanólico da espécie, logo, os autores sugerem que o efeito antioxidante de *R. officinalis* esteja correlacionado à presença e concentração destes compostos (AMARAL, 2016).

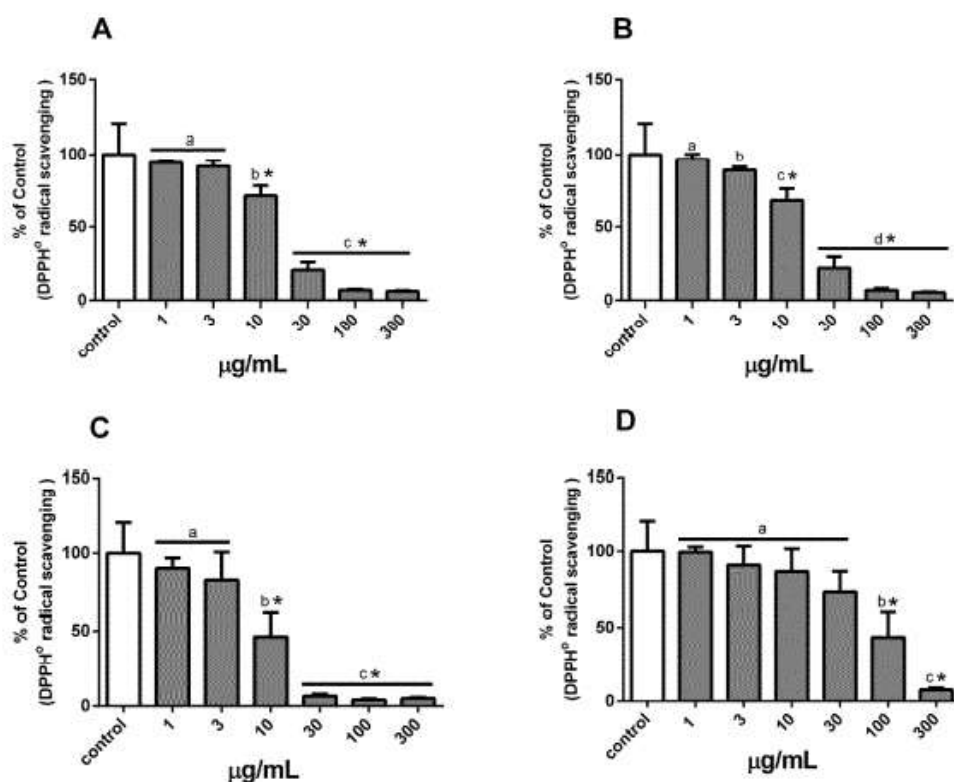


12



16

Figura 8: Capacidade de eliminação do radical DPPH para extrato de *R. officinalis* (A) e frações diclorometânica (B) acetato de etila (C) e n-butanólica (D)



Fonte: AMARAL (2016).

AMAR e colaboradores (2015), avaliaram a atividade antioxidante do extrato metanólico de *R. officinalis* e da fração de acetato de etila pelos métodos de eliminação do radical DPPH e pelo poder antioxidante (FRAP). Pelo método de eliminação do radical DPPH, foram ensaiadas as concentrações de 0,25; 0,5; 1 e 2 mg/mL do extrato, enquanto pelo método do poder antioxidante foram ensaiadas as concentrações 0,06; 0,12; 0,25; 0,5; 1 e 2 mg/mL do extrato.

Pelo método de eliminação do radical DPPH, o extrato metanólico apresentou EC_{50} de 0,510 mg/mL, e a fração de acetato de etila EC_{50} de 0,719 mg/mL. O poder antioxidante do extrato metanólico foi de $1,714 \pm 0,068$ e da fração $1,240 \pm 0,052$. O perfil obtido por HPLC para o extrato e frações ensaiadas mostrou uma maior concentração de ácido rosmarínico (**12**) no extrato metanólico. Os autores sugerem que a maior atividade antioxidante do extrato em relação à fração, se deu, devido à concentração deste metabólito (AMAR *et al*, 2015).

PEREIRA e colaboradores (2017) avaliaram a atividade do extrato de *R. officinalis* (0,5 mg/mL), pelo método de eliminação do radical DPPH, empregando hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT) nas concentrações de 0,1 mg/mL, como controle. O extrato liofilizado foi submetido a avaliação pelo potencial antioxidante (FRAP), empregando-se 100µL do extrato para 3 mL do reagente FRAP.

Pelo método DPPH, o extrato apresentou menor atividade antioxidante do que os antioxidantes comerciais, empregados como controle. Os valores de meia-vida encontrados para o extrato foram de $127,33 \pm 0,12$ e comparados à $72,25 \pm 0,07$ para o BHA e $114,66 \pm 0,07$ para o BHT. Na avaliação do potencial antioxidante pelo método FRAP, observou-se uma maior atividade para os antioxidantes comerciais comparados ao extrato, o que, segundo PEREIRA e colaboradores (2017), ocorre devido à alta complexidade do extrato em comparação à pureza dos aditivos comerciais (PEREIRA *et al*, 2017).

4.4.3.3 Atividade antioxidante *in vivo* para extratos de *R. officinalis*

RASOUL e colaboradores (2016), avaliaram a atividade antioxidante do extrato das folhas de *R. officinalis* em ratos adultos machos, após estimulação com o 6-OHDA, para desenvolvimento de espécies reativas de oxigênio. Os animais foram divididos em quatro grupos: grupo em que foi administrado água (grupo controle) e os outros três grupos que foram tratados com extrato por 14 dias, nas concentrações de 25 mg/Kg, 50 mg/Kg e 100 mg/Kg.

A concentração de espécies reativas de oxigênio aumentou nos ratos que receberam água em comparação ao grupo tratado com o extrato de *R. officinalis*. A concentração de 50 mg/Kg do extrato foi a mais ativa quando comparada ao grupo controle, reduzindo aproximadamente 60% das espécies reativas de oxigênio (RASOUL *et al*, 2016). Os autores também observaram uma estimulação nas atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) e glutathiona peroxidase.

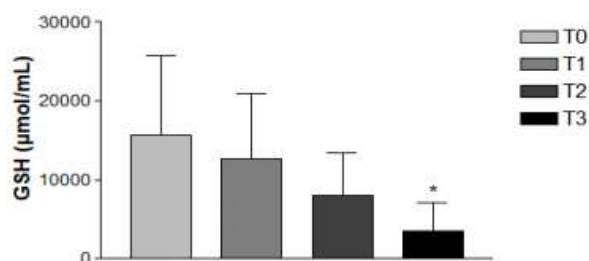
No grupo que recebeu 50 mg/Kg do extrato, observou-se um aumento de 50% na atividade da enzima SOD, comparada ao grupo controle. Para a enzima glutathiona peroxidase, observou-se um aumento de 60% na atividade, em comparação ao grupo controle. Este aumento nas enzimas indica aumento da defesa antioxidante e, segundo os autores, sugere-se que a ação antioxidante da espécie se dá por estimulação de tais enzimas (RASOUL *et al*, 2016).

ZAMBERLAN e colaboradores (2016), avaliaram a atividade antioxidante do extrato de *R. officinalis*, empregando cepas de *Caenorhabditis elegans* (nematódeo que vive em ambientes temperados) tratadas com 10, 25 e 50 $\mu\text{g/mL}$ do extrato. Os autores observaram uma redução de aproximadamente 50% da produção basal de espécies reativas de oxigênio em comparação com grupo controle após exposição à 25 mM de H_2O_2 .

LEITE (2019) avaliou a atividade do extrato da espécie em camarões (*Macrobrachium rosenbergii*) que foram divididos em grupo controle (recebeu ração sem adição do extrato) e três grupos teste (receberam ração acrescida de 2%, 5% e 15% do extrato, durante 90 dias).

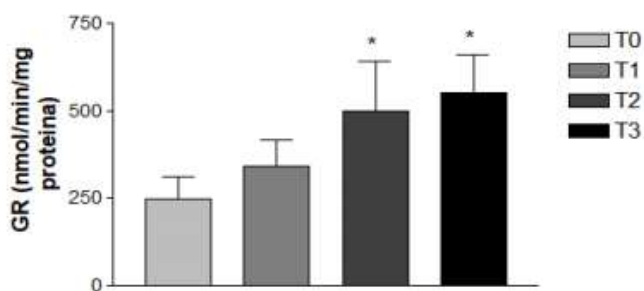
Nos grupos teste observou-se uma redução dose-dependente da concentração de glutathiona (Figura 9) e aumento dose-dependente da atividade da glutathiona redutase (Figura 10). Os resultados obtidos sugerem que o extrato de *R. officinalis* acelera a biotransformação hepática, promovendo um aumento do consumo da glutathiona reduzida indicando um potencial pró-oxidante (LEITE, 2019).

Figura 9: Concentração da glutathiona reduzida (GSH) de camarões alimentados com 2% do extrato de *R. officinalis* (T1), 5% (T2) E 15% (T3)



Fonte: LEITE (2019).

Figura 10: Atividade da enzima glutathiona redutase (GR) em camarões alimentados com 2% do extrato de *R. officinalis* (T1), 5% (T2) E 15% (T3)



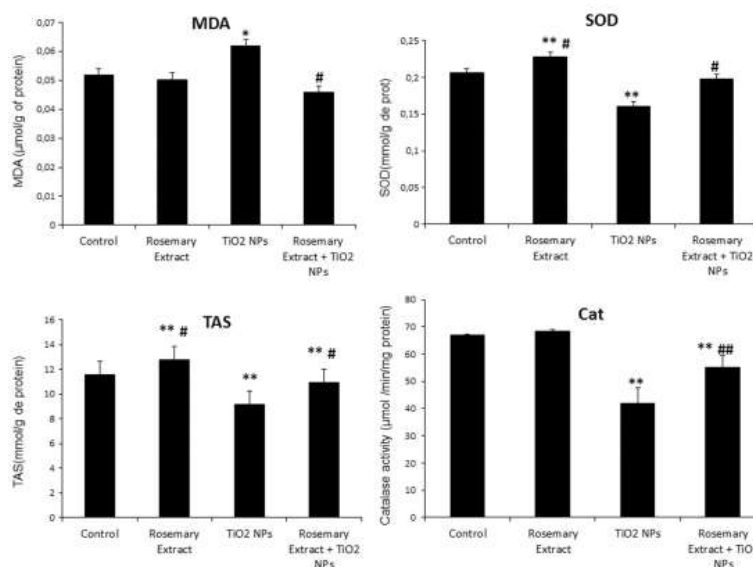
Fonte: LEITE (2019).

Em outro estudo, os autores utilizaram ratos adultos que foram divididos em quatro grupos. Grupo controle (tratado com 10 mL/Kg de água destilada), grupo 2 (tratado com 100 mg/Kg de dióxido de titânio), grupo 3 (tratados com 5 mL/Kg do extrato) e grupo 4 (tratado com 5 mL/Kg do extrato e 10 mL/Kg de dióxido de titânio) (GRISSA *et al*, 2017).

No grupo 4, observou-se um efeito significativo ($p < 0,01$) sobre o status redox no sangue dos ratos, atribuído à redução da concentração da superóxido dismutase (SOD), status antioxidante (TAS) e catalase (CAT), quando comparado ao grupo controle (Figura 11). No

grupo 3 (ratos tratados com o extrato de *R. officinalis*) observou-se melhora no status redox, com redução da concentração da superóxido dismutase e catalase (GRISSA *et al*, 2017).

Figura 11: Efeito do extrato aquoso de *R. officinalis* no dano induzido por dióxido de titânio às enzimas antioxidantes plasmáticas



Fonte: GRISSA *et al* (2017).

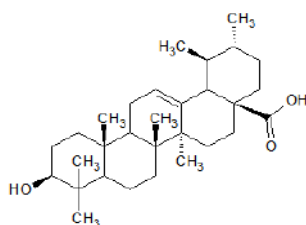
GONÇALVES e colaboradores (2018) também investigaram a atividade antioxidante do extrato de *R. officinalis* em ratos. Os animais foram classificados em quatro grupos: ratos saudáveis e sem exposição ao extrato, saudáveis tratados com 150 mg/Kg do extrato por 5 dias, animais com artrite induzida por 0,1 mL do complemento de Freund e animais artríticos tratados com 150 mg/Kg do extrato por 5 dias.

No grupo de animais artríticos tratados com o extrato de *R. officinalis* houve uma redução de 14% nos níveis de espécie reativas de oxigênio em comparação aos animais sem tratamento. Observou-se um aumento de 252% na atividade da enzima mieloperoxidase, responsável por catalisar a formação de espécies reativas de oxigênio. Para as enzimas antioxidantes do fígado, observou-se uma redução da atividade (catalase redução de 35,6%, glutathione redutase redução de 13,6%, superóxido dismutase redução de 14,1% e a glutathione peroxidase redução de 22,1%). Segundo os autores, esses achados sugerem um aumento da capacidade antioxidante após estresse inerente à artrite (GONÇALVES *et al*, 2018).

4.4.3.4 Atividade antioxidante *in vitro* para compostos isolados de *R. officinalis*

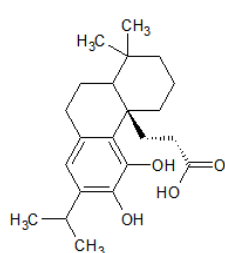
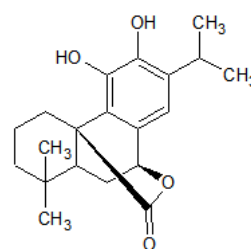
A atividade antioxidante do ácido ursólico (**13**), obtido de *R. officinalis* foi avaliada empregando-se os métodos de inibição do radical DPPH e do radical ABTS^{•+}. Os métodos avaliam o potencial do extrato em reduzir os seus radicais livres e o resultado é observado pelos pesquisadores, pela mudança de coloração do meio reacional. Para o método de DPPH, foram utilizados 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 e 500 µg/mL do ácido ursólico (**13**). No método de inibição do radical ABTS, foram utilizadas as concentrações: 22,47, 39,75, 57,03, 74,31, 91,59, 108,87, 126,16, 143,44, 160,72 e 178 µg/mL do ácido ursólico (**13**) (COLOMBO, 2018).

Os resultados obtidos pelo método de inibição do radical DPPH mostraram uma inibição dose dependente do radical, sendo EC_{50} do ácido ursólico (**13**) de 235, 61 µg/mL e do ácido ascórbico (padrão de referência) 6,01 µg/mL. No método de inibição do radical ABTS, o ácido ursólico apresentou uma $EC_{50} = 107,17$ µg/mL enquanto o padrão referência apresentou $EC_{50} = 2,33$ µg/mL. Estes resultados demonstraram que é necessária uma concentração maior do ácido ursólico (**13**) em comparação ao padrão de referência para inibir 50% dos radicais DPPH e ABTS. Estes resultados demonstram que o ácido ursólico (**13**) possui atividade antioxidante, no entanto, é cerca de 40 vezes menor do que a atividade antioxidante observada para o ácido ascórbico, logo, seria necessário concentrações muito altas do ácido ursólico (**13**) para uma potência maior (COLOMBO, 2018).



13

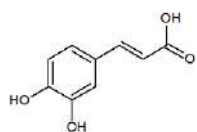
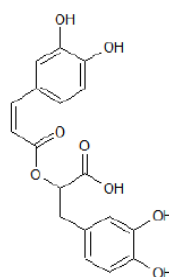
LOUSSOURAN e colaboradores (2017), visando avaliar a peroxidação lipídica empregaram o método de oxidação do lípido monogalactosildiacilglicerol (MGDG). Neste método, o MGDG é oxidado e torna-se fluorescente, devido a emissão de fótons por peróxidos lipídicos. A intensidade da fluorescência é diretamente relacionada com a peroxidação lipídica. Na presença de 60 µM de ácido carnósico (**11**), a intensidade da fluorescência foi reduzida, o mesmo ocorreu na presença de 60 µM de carnosol (**16**). Os autores sugerem que os compostos são protetores lipídicos contra radicais livres e, consequentemente promissores antioxidantes.

**11****16**

4.4.3.5 Atividade antioxidante *in vivo* para compostos isolados de *R. officinalis*

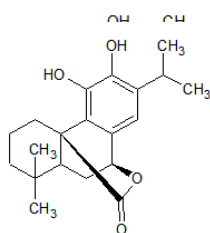
COELHO e colaboradores (2015) avaliaram a atividade antioxidante do ácido rosmarínico (**12**) e do ácido caféico (**10**) em camundongos. Após o estímulo da oxidação com pentilenotetrazol (PTZ) na concentração de 0,1 mL/10g de peso, os ensaios foram realizados com duas administrações repetidas de 1, 2 e 4 mg/Kg de ácido rosmarínico (**12**) e 1,4 e 8 mg/Kg de ácido caféico (**10**), a cada três dias, por 16 dias consecutivos.

A estimulação dos camundongos com pentilenotetrazol aumentou a concentração de radicais livres e reduziu a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD). Os ácidos rosmarínico (**12**) na dose de 1 mg/Kg e caféico (**10**) na dose de 4 e 8 mg/Kg, foram capazes de reduzir os radicais livres ($p < 0,05$) mas não alteraram a atividade da superóxido dismutase (SOD) demonstrando um efeito neuroprotetor contra danos oxidativos (COELHO *et al*, 2015).

**10****12**

LIN e colaboradores (2019), também avaliaram a atividade antioxidante do composto carnosol (**16**) empregando *Caenorhabditis elegans*, nematódeos que vivem em ambientes temperados, tratados com 60, 120, 180, 240 e 300 μ M de carnosol (**16**) e expostos ao superóxido. Após 4 dias, foi possível observar uma redução na concentração das espécies reativas de oxigênio nos grupos tratados com o carnosol (**16**) em comparação ao grupo controle.

Os animais tratados apresentaram redução de 20%, 30% e 76% das espécies reativas de oxigênio, quando tratadas com 60, 120 e 180 μM , respectivamente, em comparação ao grupo controle. Nas dosagens de 240 e 300 μM , observou-se uma redução de 70% e 60%, respectivamente. Ao fim do tratamento, observou-se em média o aumento de 42%, 18% e 87% na atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase e glutatona, respectivamente, além disso, a peroxidação lipídica foi reduzida em 21% no grupo tratado em comparação ao grupo controle (LIN *et al*, 2019).



16

4.4.4 Atividade antidepressiva

4.4.4.1 Depressão – breve revisão:

A depressão é um transtorno mental caracterizado por tristeza persistente, perda de interesse em atividades que normalmente são prazerosas e, incapacidade para realização de atividades diárias. Dentre os sintomas característicos destacam-se perda de energia, indecisão, mudanças no apetite, ansiedade, aumento ou perda de sono e pensamentos suicidas (OPAS, 2017).

A depressão, também denominada melancolia, é conhecida pelos profissionais da saúde como uma síndrome clínica há mais de 2 mil anos, no entanto, ainda há muito preconceito acerca dessa patologia (BECK *et al*, 2016). Este preconceito se dá por diversos fatores, e entre estes fatores se encontra a não explicação completa da etiologia da doença, como quais são as causas concretas do aparecimento da doença e qual seu tratamento (BECK *et al*, 2016). A depressão é caracterizada por ser um transtorno multifatorial com potentes fatores de risco, como experiências negativas na infância, eventos estressantes, parentes de primeiro grau diagnosticados e transtornos subjacentes (LEÃO *et al*, 2018).

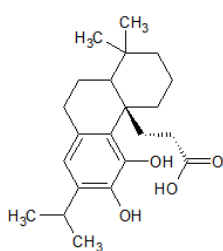
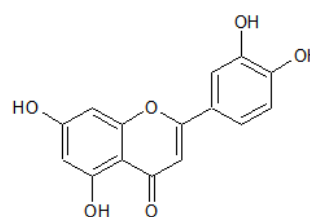
Segundo LUCENA (2019 apud SOARES e CAPONI, 2011), a depressão é diagnosticada principalmente na atenção primária, no entanto, devido à falta de especialistas e vagas, o tratamento não ocorre da melhor maneira, aumentando as chances de suicídio. O

paciente depressivo possui sintomas emocionais, motivacionais, cognitivos e físicos, levando ao abatimento, afastamento social, falta de entusiasmo, emagrecimento, falta de apetite e dificuldade no sono, podendo evoluir para o suicídio (RUFINO *et al*, 2018). Segundo o Ministério da Saúde, o suicídio é a terceira principal causa de mortes no Brasil, sendo 12,5 mil casos em 2017, representando 1,5% de todas as mortes no planeta (OPAS, 2020).

As causas da depressão não estão bem elucidadas, mas sabe-se que muitos componentes contribuem para o seu aparecimento (LUCENA, 2019 apud MELGOSA, 2009). A vulnerabilidade genética, situações estressantes, acometimento por doenças físicas como AVC, hepatite e doenças terminais, além da administração de medicamentos como cortisona, quimioterapia, anfetaminas e drogas como álcool, maconha contribuem para o aparecimento da depressão (LUCENA, 2019 apud MELGOSA, 2009).

A farmacoterapia utilizada para o tratamento da depressão ocorre principalmente com associação de antipsicóticos e antidepressivos. Os antidepressivos possuem vários mecanismos de ação como inibição da recaptação de serotonina, dopamina e inibição da monoamina oxidase, no entanto, um tratamento ideal envolve não só a farmacoterapia, mas acompanhamento do paciente, visando o bem-estar geral (LUCENA, 2019).

O tratamento da depressão com medicamentos é o mais comum, no entanto, algumas espécies também possuem efeito ansiolítico, como o *R. officinalis*. O extrato hidroalcolólico das folhas de *R. officinalis* possui efeito ansiolítico atribuído à presença dos flavonóides, além de compostos como o ácido carnósico (**11**) e a luteolina (**22**) (SCHMOLLER, 2018).

**11****22**

4.4.4.2 Atividade antidepressiva *in vivo* para extratos de *R. officinalis*

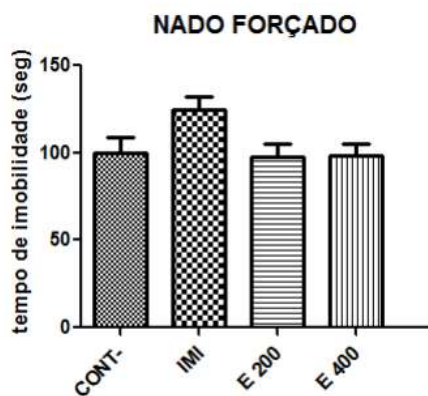
SCHMOLLER (2018), realizou um teste denominado como labirinto em Cruz Elevado, onde utilizou-se um aparato de madeira em forma de cruz para avaliar o nível de ansiedade de camundongos machos. O animal foi posicionado no centro do labirinto por 5 minutos e observou-se por quantos minutos o mesmo permaneceu em cada etapa deste labirinto.

Os camundongos utilizados no teste foram divididos em grupo controle positivo, grupo teste e grupo controle negativo. Os animais do grupo teste, receberam extrato hidroalcolico das folhas de *R. officinalis* nas concentrações de 200 e 400 mg/Kg, no grupo controle positivo foram administrados 1 mg/Kg de Diazepam. Os resultados encontrados sugerem um efeito ansiolítico para o extrato de *R. officinalis*, pois os camundongos que receberam o extrato permaneceram, aproximadamente, dois minutos a menos no labirinto quando comparado ao grupo controle positivo (SCHMOLLER, 2018).

A atividade antidepressiva *in vivo* pode ser avaliada também por um teste denominado como nado forçado, que é baseado no estresse ambiental. O animal é colocado por 5 minutos em um recipiente contendo água, em temperatura ambiente e avalia-se então o comportamento de fuga deste animal (SCHMOLLER, 2018 apud PORSOLT *et al*, 1978).

No estudo de SHMOLLER (2018), os camundongos que receberam as doses de 200 e 400 mg/Kg não apresentaram resultados que pudessem ser relacionados ao efeito antidepressivo, quando comparados ao grupo controle (30 mg/kg de imipramina) (Figura 12).

Figura 12: Efeito do extrato de *R. officinalis* no teste nado forçado



Fonte: SCHMOLLER (2018).

OLIVEIRA *et al* (2019), avaliaram o efeito do extrato das folhas de *R. officinalis* no teste de labirinto em cruz, empregando as concentrações de 100, 200 e 400 mg/Kg, administrados 45 minutos antes do teste ser realizado. O grupo controle recebeu 1 mg/Kg de Diazepam. Após 5 minutos de teste, observou-se que os animais que receberam o extrato apresentaram comportamentos semelhantes aos animais do grupo controle, sendo esse comportamento mais correspondente para aqueles animais que receberam a dose de 400 mg/Kg (OLIVEIRA *et al*, 2019).

Camundongos machos tratados com 100 mg/mL do extrato das folhas de *R. officinalis* (grupo teste) e camundongos tratados com Tween a 10 mL/Kg (grupo controle), foram expostos ao estresse de contenção durante 21 dias, em uma posição horizontal de repouso dentro de um tubo ventilado por 4 horas por dia (GUO *et al*, 2018).

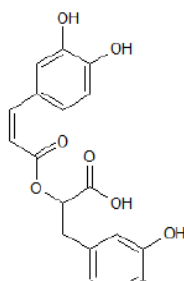
Após 21 dias da administração do extrato das folhas de *R. officinalis*, os animais foram submetidos a três testes comportamentais. No primeiro teste (OFT), os animais foram colocados em um campo aberto para observação da sua movimentação por 6 minutos, o segundo teste, teste de suspensão pela cauda (TSC), os animais ficavam suspensos pela cauda, também durante 6 minutos, no terceiro teste, os animais foram colocados em um cilindro vertical transparente contendo água e analisou-se o tempo de imobilidade destes animais durante 6 minutos (GUO *et al*, 2018).

No teste de campo aberto (OFT), os animais tratados com o extrato de *R. officinalis* percorreram uma maior distância, quando comparados ao grupo controle ($p < 0,05$), no teste de suspensão pela cauda, os animais tratados com 100 mg/mL do extrato tiveram um tempo 50% menor em relação aos animais do grupo controle, que receberam CRS para induzir a depressão. No teste do cilindro, os animais apresentam um tempo imobilidade 60% menor em comparação ao grupo que recebeu CRS (GUO *et al*, 2018)

Os resultados observados, evidenciam a ação dos extratos da espécie na melhora do comportamento tipo depressivo *in vivo* associada à inativação de reações inflamatórias no hipocampo de camundongos (GUO *et al*, 2018).

4.4.4.3 Atividade antidepressiva *in vivo* para compostos isolados de *R. officinalis*

LAURINDO (2017), avaliou da atividade do ácido rosmarínico (**12**) em camundongos machos, que foram submetidos a dois testes comportamentais após indução de depressão por lipopolissacarídeos (LPS). Os animais foram divididos em dois protocolos de tratamento: no primeiro, os camundongos receberam ácido rosmarínico (**12**) na dose de 50 mg/Kg, uma hora antes aplicação do LPS, no segundo protocolo os animais foram tratados durante 7 dias com 50 mg/Kg do ácido rosmarínico (**12**) uma vez ao dia, uma hora antes da aplicação do LPS. O grupo controle positivo, recebeu 20 mg/Kg de imipramina uma hora antes da indução por LPS.



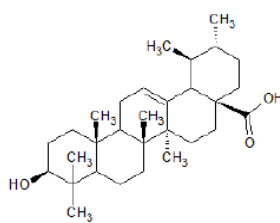
12

Os animais foram avaliados através dos testes de suspensão pela cauda (TSC), que consiste na suspensão dos animais pela cauda e avaliação do tempo de imobilidade e teste de splash, que se baseia no interesse do hábito de higiene dos animais quando o pêlo encontra-se sujo (LAURINDO, 2017).

LAURINDO (2017), observou que a administração do ácido rosmarínico (**12**) na concentração de 50 mg/Kg, alterou o comportamento dos animais, sugerindo o efeito antidepressivo do composto. No teste de suspensão pela cauda, os animais tratados com 50 mg/Kg de ácido rosmarínico (**12**) apresentaram tempo de imobilidade 37% menor do que aqueles que não receberam e tempo semelhante aos que receberam imapramina (controle positivo). No teste de Splash, os dois grupos tratados com ácido rosmarínico (**12**) apresentaram bloqueio do comportamento depressivo pois levaram menor tempo (50%) para realizar o movimento de limpeza comparado aos animais que recebera apenas o LPS.

A atividade antidepressiva do ácido ursólico (**13**) foi avaliada em camundongos machos, por HRYB e colaboradores (2017). Neste estudo, foram ensaiados o ácido ursólico (**13**) na dose de 0,1 mg/Kg, inibidores de cinases como queleritrina, H-89, PD98059, U0126, KN-62, woetmanina, LY294002 e dimetilsulfóxido nas concentrações de 10mg/Kg. Os camundongos foram tratados com ácido ursólico (**13**) 60 minutos antes do teste de suspensão pela cauda e 45 minutos antes da administração dos inibidores de cinases (HRYB, 2017).

Para avaliar a atividade antidepressiva dos compostos, os autores analisaram os camundongos no teste de suspensão pela cauda. Após a realização dos testes, observou-se que os animais tratados com o ácido ursólico (**13**) permaneceram 2 minutos a menos em imobilidade, no teste de suspensão de cauda, em comparação com os camundongos do grupo controle (10 minutos). Os autores observaram que os inibidores de cinases utilizados, reduziram o efeito antidepressivo provocado pelo ácido ursólico (**13**), aumentando o tempo de imobilidade dos camundongos no teste de suspensão pela cauda em 1 minuto, o que, segundo os autores, demonstra que o mecanismo de ação do ácido ursólico (**13**) é dependente da ativação de tais proteínas cinases (HRYB, 2017).



5. CONCLUSÃO

A espécie *R. officinalis* possui várias atividades biológicas, destacando as antineoplásicas, anti-inflamatórias, antioxidantes e antidepressivas, atribuídas aos metabólitos secundários presentes. A concentração destes metabólitos na planta, extratos e derivados é dependente do método de extração empregado, assim como de fatores ambientais, idade e armazenamento.

A atividade antineoplásica do extrato das folhas ocorre através da interrupção do ciclo celular das células tumorais, atribuída aos ácidos carnósico e rosmarínico. Estes compostos agem por diferentes mecanismos como dissociação da proteína p53, levando ao aumento da sua concentração livre e resultando em bloqueio do ciclo celular com posterior apoptose das células tumorais, tanto em testes *in vitro* como *in vivo*.

A atividade anti-inflamatória da espécie atribuída aos ácidos caféico, carnósico, rosmarínico, ursólico, betulínico e carnosol, se dá pela redução de citocinas pró-inflamatórias, principalmente pelo bloqueio das enzimas ciclooxigenases 1 e 2, com consequente bloqueio da cascata inflamatória. Em modelos *in vivo*, foi possível observar a redução do edema, relacionada ao menor recrutamento de leucócitos e neutrófilos para o local de inflamação.

A atividade antioxidante do extrato da espécie e de suas frações ocorre pela redução das espécies reativas de oxigênio. Modelos *in vitro* e *in vivo*, identificaram redução da atividade das enzimas da família da glutathione, catalase e superóxido dismutase. Essa atividade antioxidante foi associada à presença dos ácidos ursólico, rosmarínico, caféico e carnosol.

As atividades antioxidantes, antidepressivas e anti-inflamatória observadas para a espécie foram relacionadas à inibição de radicais livres e redução das citocinas pró-inflamatórias, com consequente aumento da concentração livre de hormônios e serotonina. A atividade antidepressiva também foi relacionada à ativação de proteínas cinases, realizada pelo ácido ursólico.

As atividades biológicas para os extratos e compostos isolados, apontam alternativas promissoras para o desenvolvimento de fitoterápicos a partir da espécie. Entretanto, ainda são

escassos os estudos de toxicidade, visando garantir a segurança do uso. Dessa forma, pesquisas acerca de terapias alternativas, uso de plantas medicinais, posologia, interações e efeitos colaterais se fazem necessárias visando o uso racional da espécie pela população.

6. REFERÊNCIAS

- ALENCAR, Elisama De Melo *et al.* Estudo etnobotânico do conhecimento e uso das plantas medicinais no município de Buriticupu, Maranhão, Brasil. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, [s. l.], v. 10, n. 6, p. 328–338, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.6008/cbpc2179-6858.2019.006.0028>
- AMAR, Yacine *et al.* Phytochemicals, antioxidant and antiproliferative properties of *rosmarinus officinalis* L on U937 and CaCo-2 cells. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 315–327, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.22037/ijpr.2017.1980>
- AMARAL, Guilher Pires *et al.* Propriedades de proteção gastrointestinal da *Rosmarinus officinalis* L. em associação a testes microbiológicos e antioxidantes *in vitro* e *ex vivo*. 2016. Tese (Doutorado em bioquímica toxicológica)- Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.
- AMARAL, Guilherme Pires *et al.* Antibacterial and antioxidant effects of *Rosmarinus officinalis* L. extract and its fractions. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 383–392, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.10.006>
- ARAÚJO, Jéssica Hanne Gonzaga. Principais marcadores tumorais utilizados na prática clínica: uma revisão bibliográfica. 2013. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia)- Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.
- ANVISA. Resolução RDC N° 26, DE 13 DE MAIO DE 2014. **Diário Oficial da União, Poder Executivo, DF, Brasília**, [s. l.], p. 1–34, 2014.
- ASSAF, Areej M. *et al.* Antimicrobial and anti-inflammatory potential therapy for opportunistic microorganisms. **Journal of Infection in Developing Countries**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 494–505, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3855/jidc.7610>
- BARRETO, Benilson Beloti. Fitoterapia na atenção primária à saúde: a visão dos profissionais envolvidos. [s. l.], p. 93, 2011. Disponível em: <https://repositorio.ufjf.br/jspui/handle/ufjf/2460>
- BARRETO, Benilson Beloti *et al.* **Política e Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**. [S. l.: s. n.], 2016.
- BECHAALANI, Priscila *et al.* Perfil dos pacientes com urticária e angioedema por anti-inflamatórios não esteroidais do Serviço de Alergia e Imunologia do Hospital do Servidor Público do Estado de São Paulo. **Arquivos de Asma, Alergia e Imunologia**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 201–205, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/2526-5393.20170024>
- BECK, Aaron T. **Depressão causas e tratamento**. 2ªed. Porto Alegre: Artmed, 2011.
- BOWER, Allyson; MARQUEZ, Susan; DE MEJIA, Elvira Gonzalez. The Health Benefits of Selected Culinary Herbs and Spices Found in the Traditional Mediterranean Diet. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [s. l.], v. 56, n. 16, p. 2728–2746, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.805713>
- BRAGHUROLLI, A. Farmacologia aplicada. Porto Alegre: Sersagah, 2018.
- BRANCO, Mariana Brito Dantas Castelo. Potencial terapêutico do ácido caféico no tratamento da obesidade e em cultivo celular de pré-adipócitos 3T3-L-1. Dissertação

(Doutorado em ciências farmacêuticas)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2019.

BRASIL. RDC nº 4, de 18 de junho de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos. Brasília, 2014.

BRASIL. RDC nº 48, de 16 de março de 2004. Aprova o regulamento técnico, em anexo, visando atualizar a normatização do registro de medicamentos fitoterápicos. Brasília, 2013.

BRUNTON, L.L. Goodman e Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 13ª ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2019.

BRUNNING, Maria Cecília Ribeiro *et al.* A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu- Paraná: a visão dos profissionais de Saúde. **Ciência e Saúde Coletiva**, 2012.

CARDOSO, Bruce Soares; AMARAL, Vanessa Cristiane Santana. The use of phytotherapy during pregnancy: A global overview. **Ciencia e Saude Coletiva**, [s. l.], v. 24, n. 4, p. 1439–1450, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-81232018244.07472017>

COELHO, Vanessa Rodrigues *et al.* Antiepileptogenic, antioxidant and genotoxic evaluation of rosmarinic acid and its metabolite caffeic acid in mice. **Life Sciences**, [s. l.], v. 122, p. 65–71, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.11.009>

COLICA, Carmela *et al.* Rosmarinic Acid as Potential Anti-Inflammatory Agent. **Reviews on Recent Clinical Trials**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 240–242, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/157488711304180911095818>

COLOMBO, Fernanda Cardoso. Avaliação da eficácia e da citotoxicidade *in vitro* do ácido ursólico e sua incorporação em emulsão cosmética. 2018. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas)- Univerisade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, 2018.

CONCEIÇÃO, Fábio Daniel Pedroso. Síntese de derivados semi-sintéticos do ácido oleanólico com vista à atividade antitumoral. 2016. Tese (Mestrado em química medicinal)- Universidade de Coimbra, Coimbra, 2016.

DALMARCO, Juliana Bastos. Estudo das propriedades químicas e biológicas de *Rosmarinus officinalis* L. [s. l.], p. 132, 2012. Disponível em: <http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/100930>

DE ALMEIDA GONÇALVES, Geferson *et al.* Water soluble compounds of: *Rosmarinus officinalis* L. improve the oxidative and inflammatory states of rats with adjuvant-induced arthritis. **Food and Function**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 2328–2340, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/c7fo01928a>

DE OLIVEIRA, Jonatas Rafael *et al.* Biological activities of *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) extract as analyzed in microorganisms and cells. **Experimental Biology and Medicine**, [s. l.], v. 242, n. 6, p. 625–634, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1535370216688571>

FLOREZ, Laurilyn Maureen Rojas. Obtenção e caracterização de fibras rotofiadadas de policaprolactona incorporando extrato de *Rosmarinus officinalis* e surfactantes visando aplicações antimicrobianas. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica)- Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2019.

- FORS, Susan M. *Farmacologia Clínica*. 11^aed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.
- FUCHS, F.D. *Farmacologia Clínica: Fundamentos da Terapêutica Racional*. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017.
- GALVÃO, Taís Freire; PEREIRA, Mauricio Gomes. Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 183–184, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5123/s1679-49742014000100018>
- GHASEMIAN, Mona; OWLIA, Sina; OWLIA, Mohammad Bagher. Review of Anti-Inflammatory Herbal Medicines. **Advances in Pharmacological Sciences**, [s. l.], v. 2016, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2016/9130979>
- GHASEMZADEH RAHBARDAR, Mahboobeh *et al.* Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. and rosmarinic acid in a rat model of neuropathic pain. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 86, p. 441–449, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.049>
- GONZÁLEZ-VALLINAS, Margarita *et al.* Expression of MicroRNA-15b and the glycosyltransferase GCNT3 correlates with antitumor efficacy of rosemary diterpenes in colon and pancreatic cancer. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. 1–10, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098556>
- GONZÁLEZ-VALLINAS, Margarita *et al.* Modulação de receptores de estrôgenio e fator de crescimento epidérmico pelo extrato de alecrim em células de câncer de mama. **Eletroforese**, 2014.
- GONZÁLEZ-VALLINAS, Margarita; REGLERO, Guillermo; RAMÍREZ DE MOLINA, Ana. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extract as a Potential Complementary Agent in Anticancer Therapy. **Nutrition and Cancer**, [s. l.], v. 67, n. 8, p. 1223–1231, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01635581.2015.1082110>
- GRISSA, Intissar *et al.* *Rosmarinus officinalis* L. ameliorates titanium dioxide nanoparticles and induced some toxic effects in rats' blood. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 24, n. 13, p. 12474–12483, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8848-1>
- GUILARDUCCI, Nathália V. *et al.* Efeito da administração oral de extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) no desenvolvimento do Tumor Sólido de Ehrlich. **Revista Fitos**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 23–32, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.5935/2446-4775.20160003>
- GUO, Ying *et al.* Efeitos antidepressivos dos extrato de alecrim associados ao efeito anti-inflamatório e reequilíbrio da microbiota intestinal. **Front Pharmacol**, 2018.
- HAMIDPOUR, Rafie. *Rosmarinus Officinalis* (Rosemary): A Novel Therapeutic Agent for Antioxidant, Antimicrobial, Anticancer, Antidiabetic, Antidepressant, Neuroprotective, Anti-Inflammatory, and Anti-Obesity Treatment. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 1098–1103, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.26717/bjstr.2017.01.000371>
- HARAGUCHI, Linete Maria Menzenga *et al.* Impacto da Capacitação de Profissionais da Rede Pública de Saúde de São Paulo na Prática da Fitoterapia. **Revista Brasileira de Educação Médica**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 1–11, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1981-5271v44.1-20190190>

HASSANI, Faezeh Vahdati; SHIRANI, Kobra; HOSSEINZADEH, Hossein. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: a review. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, [s. l.], v. 389, n. 9, p. 931–949, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00210-016-1256-0>

HILÁRIO, Maria Odete Esteves; TERRERI, Maria Teresa; LEN, Cláudio Arnaldo. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Cyclooxygenase 2 inhibitors. **Jornal de Pediatria**, [s. l.], v. 82, n. SUPPL. 2, p. 206–212, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.2223/JPED.1560>

HUSSAIN, A.I. *Rosmarinus officinalis* óleo essencial: antiproliferativos atividades antioxidantes e antibacterianas. **Brazilian Journal of Microbiology**.

HYRB, Ana Belém Ramos. Estudo dos mecanismos envolvidos no efeito tipo-antidepressivo e neuroprotetor do ácido ursólico. 2017. Dissertação (Doutorado em Neurociências)- Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

IMOTO, Aline Mizusaki *et al.* Cloroquina e Hidroxicloroquina no tratamento da COVID-19: sumária de evidências. **Comunicação em ciências da Saúde**, 2020.

JUSTO, Oselys Rodriguez *et al.* Evaluation of in vitro anti-inflammatory effects of crude ginger and rosemary extracts obtained through supercritical CO₂ extraction on macrophage and tumor cell line: The influence of vehicle type. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 15, n. 1, p. 1–15, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0896-9>

KARIMI, Neamat *et al.* Cytotoxic effect of Rosemary extract on gastric adenocarcinoma (AGS) and esophagels mous cell carcinoma (KYSE30) cell lines. **Gastroenterology and hepatology from bed to bench**, 2017.

KASHYAP, Dharambir *et al.* Mechanistic insight into carnosol-mediated pharmacological effects: Recent trends and advancements. **Life Sciences**, [s. l.], v. 169, n. November 2016, p. 27–36, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.11.013>

LAURINDO, Larissa da Rocha. Ácido rosmarinico inibe a resposta a neuro inflamatória autoimune e comportamento tipo depressivo em camundongos. Dissertação (Graduação em Fisioterapia) - Universidade Federal do Santa Catarina, Araranguá, 2017.

LEÃO, Andrea Mendes, *et al.* Prevalence and Factors Associated with Depression and Anxiety among University Students in the Field of Health in a Large Urban Center in the Northeast of Brazil. *Ver, Bras. Educ med.* vol. 42, n 4, 9. 55-65, dezembro, 2018.

LEITE, Karina. Avaliação *in vivo* do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) como antioxidante em camarões (*Macrobrachium rosenbergii*) e efeitos sobre a composição centesimal da carne. Dissertação (Pós graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal da Fronteira Sul) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Paraná, 2019.

LIMA, APL; GROSSO, ESB. Efeito Antimicrobiano do Alecrim (*Rosmarinus officinalis*) sobre Cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* Isoladas de Pacientes de um Hospital Escola do. ... **Ciências Em Saúde**, [s. l.], n. 77, 2014. Disponível em: http://200.216.240.50:8484/rcsfmit/ojs-2.3.3-3/index.php/rcsfmit_zero/article/view/230

LIMA, Nilson June. Modelos matemáticos do ciclo celular. Tese (Mestrado em Engenharia Matemática) - Universidade do Porto, Porto, 2016.

LIN, Chunxiu, *et al.* Carnosol Improved Lifespan and Healthspan by Promoting Antioxidant Capacity in *Caenorhabditis elegans*. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019.

LOUSSOUARN, Margot *et al.* Carnosic acid and carnosol, two major antioxidants of rosemary, act through different mechanisms. *Plant Physiology*, [s. l.], v. 175, n. 3, p. 1381–1394, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1104/pp.17.01183>

LUCENA, Carlos Yuri Ferreira. Depressão compreendida como distúrbio e doença do século. Dissertação (Graduação em Medicina) – Universidade Federal de Campina Grande, Cajazeiras, 2019.

MALAQUIAS, Geiz, *et al.* Utilização na medicina popular, potencial terapêutico e toxicidade em nível celular das plantas *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia officinalis* L., e *Mentha piperita* L. (Família Lamiaceae). *Revista Intertox de Toxicologia, Risco ambiental e sociedade*, v.7,n.3. 2014.

MAZIEIRO, Maiara; TEIXEIRA, Marianne Pinheiro. A expansão da utilização de fitoterápicos no Brasil. Salão internacional de ensino, pesquisa e extensão, Universidade Federal do Pampa. Santana do Livramento, 2017.

MENEZES, Carolline Rodrigues; SANCHES, Cristina; CHEQUER, Farah Maria Drumond. Efetividade e toxicidade da cloroquina e da hidroxicloroquina associada (ou não) à azitromicina para tratamento da COVID-19. O que sabemos até o momento? *Journal of Health & Biological Sciences*, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 1, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.12662/2317-3076jhbs.v8i1.3206.p1-9.2020>

MOORE, J., *et al.* O extrato de alecrim reduz a ativação de Akt / mTOR / p70S6K e inibe a proliferação e a sobrevivência das células de câncer de pulmão humano A549. *Biomed. Pharmacother.* 2016.

MOORE, Jessy; YOUSEF, Michael; TSIANI, Evangelia. **Anticancer effects of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract and rosemary extract polyphenols.** [S. l.: s. n.], 2016. ISSN 20726643.v. 8 Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu8110731>

MORES, Sabrina. Avaliação da atividade antioxidante de extratos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e Tarumã (*Vitex megapotamica*). Dissertação (Graduação em Engenharia de alimentos) - Universidade Federal do Santa Catarina, Florianópolis, 2018.

NIETO, Gema; ROS, Gaspar; CASTILLO, Julián. Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines*, [s. l.], v. 5, n. 3, p. 98, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/medicines5030098>

OLIVEIRA, Jeannine Carla Antunes; VEIGA, Rogério da Silva. Impacto do uso do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) para a saúde humana. *Brazilian journal of natural sciences*. 2019.

OLIVEIRA, Jonatas Rafael de. AVALIAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS EXTRATOS DE *Rosmarinus officinalis* L. (ALECRIM) E *Thymus vulgaris* L. (TOMILHO). [s. l.], 2016.

OLIVEIRA, Jonatas Rafael; JESUS, Daiane de; OLIVEIRA, Luciane Dias. Biological activities of *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) extract as analyzed in microorganisms and cells. *Experimental Biology and Medicine*, 2017.

OLIVEIRA, Nelson Côrtes; PFRIMER, Irmtraut Araci Hoffmann. Análise integrada à biologia de sistemas para avaliação de citocinas pró-inflamatória e anti-inflamatórias na infecção Zika vírus. Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2019.

Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS). Depressão: o que você precisa saber: OPS; 2016. Disponível em <
https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5372:depressao-o-que-voce-precisa-saber&Itemid=822#:~:text=A%20depress%C3%A3o%20%C3%A9%20um%20transtorno,durante%20pelo%20menos%20duas%20semanas> Acesso em 15 de dezembro de 2020.

PEREIRA, Daiane, *et al.* Rosemary as natural antioxidante to prevent oxidation in Chicken burgers. *Food Sci. Technol.* Campinas, 2017.

PÉREZ-SÁNCHEZ, Almudena *et al.* Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract causes ROS-induced necrotic cell death and inhibits tumor growth in vivo. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1–11, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37173-7>.

RAGUNATHAN, Gurushree Soundararajan; N G Ramesh Babu; Jesteena Johney; R. Extraction of Bioactive Compounds from *Rosmarinus Officinalis* L. and its Anticancer Activity against HeLa Cell Line. **International Journal of Science and Research (IJSR)**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. 165–168, 2017. Disponível em: <https://www.ijsr.net/archive/v6i8/17071708.pdf>

RAHBARDAR, Mahboobeh Ghasemzadeh *et al.* Anti-inflammatory effects of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. and rosmarinico acid in a rat modelo f neuropathic pain. **Elsevier**, 2016.

RASOUL, Arashpour, *et al.* Antioxidant activity of oral administration of *Rosmarinus officinalis* leaves extract on rat's hippocampus which exposed to 6-hydroxydopamine. **Brazilian Archives of Biology adn Technology**, 2016.

RUFINO. S. et al. Aspectos gerais, sintomas e diagnósticos da depressão. **Revista Saúde em foco**. 10ª ed, p. 837-843, 2018.

SAIKO, Philipp *et al.* O galto de epigallocatequina, o ácido elágico e o ácido rosmarinico perturbam os pools de dNTP e inibem a síntese de DNA novo e a proliferação de células de leucemia promielocítica HL-60 humana: sinergismo com arabinofuranosilcitosina. **Elsevier**, 2015.

SANTOS, Dilaina da Silva. Câncer de mama: associação entre terapias convencionais e não convencionais. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019.

SCHMOLLER, Vanessa Maria. Estudo dos efeitos comportamentais e cognitivos do extrato de *Rosmarinus officinalis*. Dissertação (Graduação em Enfermagem) - Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop, 2018.

SILVA, Ana Mara de Oliveira, *et al.* Extrato aquoso de *Rosmarinus officinalis* L. inibe o influxo de neutrófilos e a secreção de citocinas. **Phytotherapy Research**, 2015.

SIMÕES *et al.* Farmacognosia do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed, 2017. cap. 18.

SOUZA, Lars Leonador Sanhudo de. Ciclo celular detalhado pela análise de componentes principais. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Física)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2018.

WANG, W. J. *et al.* Effect of a rosmarinic acid supplemented hemodialysis fluid on inflammation of human vascular endothelial cells. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s. l.], v. 50, n. 12, p. 4–11, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1414-431X20176145>

WHALEN, Karen. Farmacologia ilustrada. Porto Alegre: Artmed, 2016.

YAN, Miao *et al.* Standardized rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract induces Nrf2/sestrin-2 pathway in colon cancer cells. **Journal of Functional Foods**, [s. l.], v. 13, p. 137–147, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.038>

YOUSEF, Michael, *et al.* Attenuation of allergen-mediated mast cell activation by Rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.). **J. Leukoc Biocl.** 2020.

ZAMBERLAN, D.C., *et al.* *Rosmarinus officinalis* L. increases *Caenorhabditis elegans* stress resistance and longevity in a DAF-16, HSF-1 and SKN-1 dependent manner. **Braz J Med Biol Res**, 2016.