

EXTRAÇÃO DO ÁCIDO ROSMARÍNICO DE ERVAS AROMÁTICAS

BRUNA C. S. SANTOS ^{1,2}, ALINE P. DRESCH ^{2,3}, GILNEI B. DA SILVA ⁴, DAIANE MANICA ⁴, GUILHERME M. MIBIELLI ⁵, MARGARETE D. BAGATINI ⁵, JOÃO P. BENDER ^{2,6}

1 Introdução

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é uma erva aromática amplamente utilizada na culinária e na medicina. Nos últimos anos, tem despertado interesse científico devido à presença de compostos bioativos com reconhecida ação antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena (Aziz et al., 2022; Psarrou et al., 2020). Dentre os compostos fenólicos presentes no alecrim, o ácido rosmarínico se destaca por sua ampla bioatividade, atuando em vias moleculares associadas à proliferação celular, apoptose e inflamação. Estudos realizados mostraram sua eficiência inibindo células tumorais, além de apresentar baixa toxicidade para células saudáveis (Silva et al., 2023; Huang et al., 2021).

O melanoma cutâneo, tipo mais agressivo de câncer de pele, tem apresentado crescente incidência global, o que impulsiona a busca por abordagens terapêuticas mais eficazes e seguras. Diante disso, este trabalho propõe-se a analisar o processo de extração do ácido rosmarínico das folhas de alecrim, com foco na aplicação do extrato sobre células de melanoma SK-MEL-28, visando investigar possíveis efeitos antiproliferativos.

2 Objetivos

Este estudo teve como objetivo avaliar a extração de ácido rosmarínico da erva de alecrim utilizando a técnica de extração assistida por ultrassom e investigar o potencial antiproliferativo do extrato em células de melanoma cutâneo SK-MEL-28.

3 Metodologia

As folhas de alecrim foram secas a 50 °C por 5 dias, moídas e

¹ Discente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, contato: brunacaline7@gmail.com.

² Grupo de Pesquisa em Processos Enzimáticos e Microbiológicos (GPPEM).

³ Mestra, Universidade Federal do Paraná, *campus* Palotina.

⁴ Mestra/Mestre, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó.

⁵ Docente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó.

⁶ Docente, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Chapecó, **Orientador**.

peneiradas ($d \leq 0,6$ mm). A extração do ácido rosmarínico foi avaliada por meio de um planejamento fatorial completo, 2^3 , com dois níveis e três variáveis (Tabela 1). As extrações foram realizadas por 120 min em banho ultrassônico (UC-50A, Biobase), seguidas de centrifugação (500 rpm, 5°C e 5 min). A fração líquida foi armazenada a -18°C sob abrigo de luz para posterior quantificação.

Tabela 1. Planejamento fatorial completo, 2^3 , variáveis e níveis experimentais empregados.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Temperatura ($^\circ\text{C}$)	30	50	70
Razão sólido-líquido (RSL) (mg/mL)	20	40	60
Concentração de etanol (%)	20	40	60

O conteúdo fenólico total (CFT) foi determinado por espectrofotometria utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, conforme a metodologia descrita por Dresch et al. (2025). A análise foi realizada em placas de 96 poços, com leitura da absorbância a 760 nm. A quantificação foi baseada em uma curva padrão de ácido gálico ($0\text{--}100\text{ }\mu\text{g/mL}$, $R^2 = 0,9941$), com resultados expressos em mg de ácido gálico equivalente (AGE) por grama de biomassa seca.

A atividade antioxidante total (AAT) foi avaliada por meio do método DPPH, conforme descrito por Dresch et al. (2025) e Miki et al. (2024). A leitura foi realizada a 517 nm, e a quantificação foi baseada em curva padrão de Trolox ($0\text{--}50\text{ }\mu\text{g/mL}$, $R^2 = 0,9846$), sendo os resultados expressos em mg de Trolox equivalente (TE) por grama de biomassa seca.

A identificação e quantificação dos compostos fenólicos foram realizadas em HPLC-MS conforme descrito por Miki et al. (2024). A extração otimizada (70°C , 20 mg/mL, 60% etanol) foi replicada em escala ampliada para realização dos testes em linhagem celular SK-MEL-28. As células foram tratadas com concentrações de extrato variando entre 0,005 mg/mL e 0,1 mg/mL por 24 h, sendo a análise de viabilidade celular determinada através de ensaios de fluorescência mitocondrial (TMRE), conforme metodologia descrita por Dresch et al. (2025).

4 Resultados e Discussão

A análise dos compostos fenólicos totais revelou variações significativas conforme as condições do planejamento experimental (Tabela 2). O maior valor de CFT foi obtido no ensaio 6 (70 °C, 20 mg/mL e 60% de etanol), com 57,08 mg AGE/g de biomassa seca. Este resultado confirma que temperaturas elevadas e maiores concentrações de etanol favorecem a extração de fenólicos, devido ao aumento da solubilidade, difusão do solvente e intensidade de cavitação ultrassônica (Bernatoniene et al., 2016). Observou-se também um efeito negativo da razão sólido-líquido, sendo que menores proporções (maior volume de solvente) aumentaram a eficiência de extração devido a maior área de contato entre biomassa e solvente (Xie et al., 2023).

Tabela 2. Resultados em termos do conteúdo fenólico total e atividade antioxidante do planejamento de experimentos realizado.

Ensaio	Temperatura (°C)	RSL (Mg/mL) ^a	Concentração Etanol (%)	CFT (mg AGE/ g biomassa seca) ^b	AAT (mg TE/ g biomassa seca) ^c
1	30 (-1)	20 (-1)	20 (-1)	23,80 ± 1,84	1,73 ± 0,03
2	70 (+1)	20 (-1)	20 (-1)	39,35 ± 1,72	1,86 ± 0,01
3	30 (-1)	60 (+1)	20 (-1)	14,75 ± 1,96	0,39 ± 0,01
4	70 (+1)	60 (+1)	20 (-1)	25,31 ± 0,30	0,60 ± 0,19
5	30 (-1)	20 (-1)	60 (+1)	35,79 ± 1,07	2,21 ± 0,01
6	70 (+1)	20 (-1)	60 (+1)	57,08 ± 1,62	2,15 ± 0,01
7	30 (-1)	60 (+1)	60 (+1)	32,51 ± 0,83	0,66 ± 0,01
8	70 (+1)	60 (+1)	60 (+1)	47,61 ± 2,79	0,60 ± 0,01
9	50 (0)	40 (0)	40 (0)	38,99 ± 2,27	0,92 ± 0,01

^a Razão sólido líquido; ^b Conteúdo fenólico total; ^c Atividade antioxidante total.

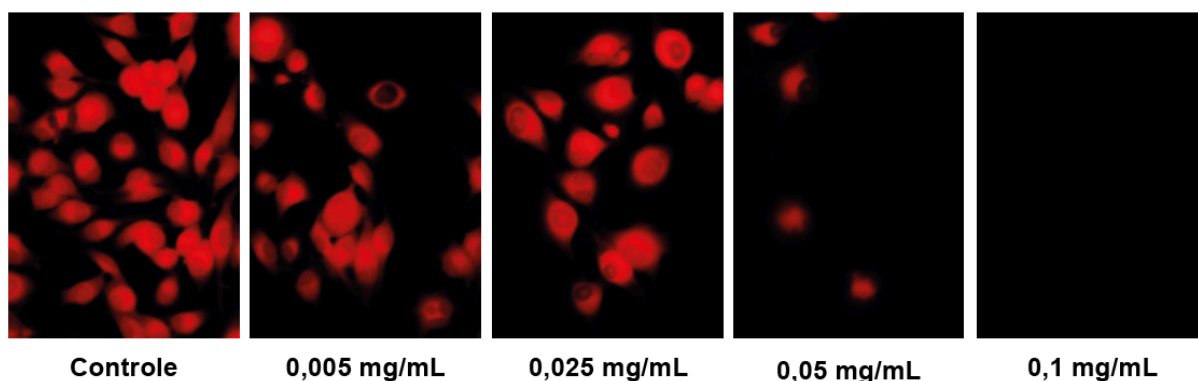
A atividade antioxidante total seguiu tendência semelhante, com o maior valor também no ensaio 6 (2,15 mg TE/g). A correlação entre alto teor de fenólicos e atividade antioxidante demonstra a relevância desses compostos na neutralização de radicais livres, especialmente o ácido rosmarínico, que tem forte potencial antioxidante (Aziz et al., 2022; Psarrou et al., 2020). Contudo, observa-se que o aumento da AAT nem sempre foi proporcional ao CFT, indicando que outros fatores, como sinergismos entre compostos, podem influenciar essa atividade (Gambin et al., 2023).

A análise por LC-MS indicou o ácido rosmarínico como composto majoritário em quase todos os extratos, atingindo até 273,39 mg/L·g de biomassa seca no ensaio 8 e 170,13 mg/L·g no ensaio 6. A maior extração ocorreu sob alta temperatura e concentração

intermediária de etanol, o que corrobora Psarrou et al. (2020), que relataram maior extração com solventes hidroalcoólicos sob extração assistida por ultrassom. Compostos como ácido cafeico, miricetina e ácido p-cumárico foram detectados em menores concentrações ou abaixo do limite de detecção. Esses resultados confirmam que o perfil bioativo do extrato é dominado pelo ácido rosmarínico, cuja presença elevada contribui para a sua expressiva atividade antioxidante.

A atividade antiproliferativa foi avaliada na linhagem celular SK-MEL-28, por meio de ensaios de fluorescência mitocondrial (TMRE) (Figura 1).

Figura 1. Efeito antiproliferativo do extrato de alecrim em células SK-MEL-28 observadas por microscopia de fluorescência após 24 h de tratamento.



O extrato reduziu significativamente a viabilidade celular a partir de 0,025 mg/mL, com menor viabilidade registrada na concentração de 0,1 mg/mL. A fluorescência mitocondrial diminui com o aumento da concentração do extrato, indicando comprometimento do potencial de membrana mitocondrial. Esses resultados estão de acordo com Silva et al. (2023), que demonstraram a capacidade do ácido rosmarínico de induzir disfunção mitocondrial, apoptose e reduzir a expressão do NLRP3 em células de melanoma.

Apesar do presente estudo ter se limitado à linhagem SK-MEL-28, os resultados reforçam o potencial antitumoral do extrato etanólico de alecrim, atribuído principalmente ao ácido rosmarínico, mas possivelmente também à interação com outros compostos presentes, como carnosol e ácido carnósico (González-Vallinas et al., 2015). A interação sinérgica entre esses componentes pode explicar a eficácia antiproliferativa observada, mesmo quando presentes em concentrações reduzidas.

5 Conclusão

A extração assistida por ultrassom mostrou-se uma estratégia eficiente para obtenção

de ácido rosmarínico a partir da erva de alecrim, resultando em extratos com atividade citotóxica significativa contra células de melanoma SK-MEL-28. Os resultados reforçam o potencial do alecrim como fonte promissora de compostos bioativos com possível aplicação em estratégias terapêuticas anticancerígenas.

Referências Bibliográficas

AZIZ, E. et al. Therapeutic and pharmacological perspectives of *Rosmarinus officinalis* L. and its constituents. **Phytotherapy Research**, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.09.026>.

BERNATONIENE, J.; et al.. Novel approaches to optimize extraction processes of ursolic, oleanolic and rosmarinic acids from *Rosmarinus officinalis* leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 84, p. 72–79, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.031>.

DRESCH, A. P. et al. Valorization of elephant grass biomass: Ethanol production from cellulose fraction and anticancer application of lignin. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13399-025-06583-9>.

GAMBIN, L. D. B. et al. Phenolic compounds from feijoa (*Acca sellowiana*) fruits: Ultrasound-assisted extraction and antiproliferative effect on cutaneous melanoma cells (SK-MEL-28). **Food Bioscience**, v. 55, p. 103078, 2023. DOI: 103078. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103078>.

GONZÁLEZ-VALLINAS, M.; REGELERO, G.; RAMÍREZ DE MOLINA, A. *Rosmarinus officinalis* L. extract as a potential complementary agent in anticancer therapy. **Nutrition and Cancer**, v. 67, n. 8, p. 1223–1231, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/01635581.2015.1082110>.

HUANG, L. et al. Rosmarinic acid suppresses melanoma cell proliferation and migration via EGFR/AKT pathway. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 273, p. 113975, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1941699>.

MIKI, K. S. L. et al. Influence of drying methods in the ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from *Byrsonima crassifolia* to evaluate their potential antitumor activity. **Food and Humanity**, v. 2, p. 100242, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2024.100242>.

PSARROU, E. et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolics from *Rosmarinus officinalis* and evaluation of their antioxidant potential. **Antioxidants**, v. 9, n. 7, p. 647, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25194520>.

SILVA, M. A. F. et al. Rosmarinic acid modulates melanoma progression and NLRP3 expression. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 160, p. 114303, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2023.110427>.

XIE, Y. et al. Solvent selection and optimization for polyphenol extraction from *Rosmarinus officinalis*. **Journal of Food Science and Technology**, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02421-0>.

Palavras-chave: Alecrim; Extração assistida por ultrassom; Melanoma cutâneo.

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2024-0374

Financiamento: