

DIOGO FILIPE BERNARDO LADEIRAS

**ESTUDO DE COMPOSTOS BIOACTIVOS E
ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DO ALECRIM
(*ROSMARINUS OFFICINALIS* L.)**

Orientador: Professora Doutora Patrícia Rijo

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Departamento Ciências da Saúde

Lisboa

2014

DIOGO FILIPE BERNARDO LADEIRAS

**ESTUDO DE COMPOSTOS BIOACTIVOS E
ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DO ALECRIM
(*ROSMARINUS OFFICINALIS* L.)**

Dissertação apresentada para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas no Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias/ Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Orientador: Professora Doutora Patrícia Rijo

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Departamento Ciências da Saúde

Lisboa

2014

Agradecimentos

À minha orientadora, Professora Doutora Patrícia Rijo, deixo um especial agradecimento por todo o apoio, disponibilidade e aconselhamento, fundamentais para a elaboração desta dissertação.

Agradeço ainda à minha família, pais, irmão, avós e Inês, por toda a ajuda, ânimo e confiança transmitida, indispensável ao longo deste período académico.

Obrigado a todos.

Resumo

As plantas constituem um recurso terapêutico ainda hoje muito utilizado. O interesse mundial no uso das plantas medicinais tem sido crescente, com os seus efeitos benéficos a serem redescobertos para o desenvolvimento de novos medicamentos.

Pela primeira vez, com esta dissertação, foi elaborada uma revisão bibliográfica sistemática com o objectivo de clarificar o estado actual dos estudos sobre *Rosmarinus officinalis* L., elucidando quais os seus compostos e as actividades biológicas mais relevantes.

Para tal, foi feita uma pesquisa na base de dados 'PUBMED', com os termos "rosemary" e "Rosmarinus officinalis", donde foram recolhidos 232 artigos publicados entre 1990 e 30 de Novembro de 2014 sobre as actividades farmacológicas e os compostos isolados do alecrim.

Ao longo dos anos verificou-se um crescente interesse nas propriedades desta planta. O ácido carnósico, o óleo essencial, o carnosol e o ácido rosmarínico foram os compostos mais estudados, e as actividades anti-tumoral, anti-infecciosa e antioxidante as mais reportadas.

Pela consistência de estudos, o ácido carnósico e o óleo essencial de *R. officinalis*, demonstram ser alternativas prometedoras para o desenvolvimento de novos fármacos anti-tumorais e anti-infecciosos, respectivamente. Com esta revisão, conclui-se que o alecrim constitui uma excelente fonte de compostos com inúmeras propriedades medicinais.

Palavras-chave: *Rosmarinus officinalis*; alecrim; revisão sistemática; ácido carnósico; óleo essencial

Abstract

Plants are a therapeutic resource still widely used nowadays. The worldwide interest in the use of medicinal plants has been growing, with its beneficial effects being rediscovered for the development of new drugs.

For the first time, with this work, it's presented a systematic literature review in order to clarify the current state of research on *Rosmarinus officinalis* L., elucidating which compounds and biological activities are the most relevant.

To this end, a search was made in the database PUBMED, with the terms "rosemary" and "*Rosmarinus officinalis*", which included 232 articles published between 1990 and November 30, 2014 about rosemary's pharmacological activities and their isolated compounds.

Over the years there has been an increasing interest in the properties of this plant. The carnosic acid, essential oil, carnosol, and rosmarinic acid were the most studied compounds and antitumoral, anti-infective and antioxidante the most activities reported.

By the consistency of studies, carnosic acid and *R. officinalis* essential oil, shown to be promising alternatives for the development of new anti-tumoral and anti-infective drugs, respectively. With this review, we conclude that rosemary is an excellent source of compounds with numerous medicinal properties.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*; rosemary; systematic review; carnosic acid; essential oil

Abreviaturas, siglas e símbolos

Bcl-2: Célula-B de linfoma 2

CAT: Enzima catalase

CCl₄: Tetracloreto de carbono

COX: Ciclo-oxigenase

CO₂: Dióxido de carbono

CYP: Citocromo P450

DMBA: 7,12-Dimetilbenz[a]antraceno

DPPH: 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

EtOH: Etanol

FRAP: Método de redução do ferro
(‘Ferric reducing ability of plasma’)

GC-FID: Cromatografia Gasosa com
Detector de Ionização de Chama (‘Gas
chromatography-Flame Ionization
Detector’)

GC-MS: Cromatografia gasosa com
espectrómetro de massa (‘Gas
chromatography–mass spectrometry’)

GST: Glutationa-S-transferase

HPLC: Cromatografia Líquida de Alta
Eficiência (‘High-performance liquid
chromatography’)

hRSV: Vírus Respiratório Sincicial
Humano

IL: Interleucina

iNOS: Óxido nítrico sintetase induzível

KCl: Cloreto de potássio

LC-MS: Cromatografia líquida com
espectrómetro de massa (‘Liquid
chromatography–mass spectrometry’)

MAPKs: Proteínas tirosina quinase ativada
por mitógenos

CMB: Concentração Mínima Bactericida
(MCB: Minimum Bactericidal
Concentration)

MBP: Medicamento à base de plantas

CMF: Concentração Mínima Fungicida
(MFC: Minimum Fungicidal
Concentration)

CMI: Concentração Mínima Inibitória
(MIC: Minimum Inhibitory Concentration)

MMP: Metaloproteinase da matriz

NO: Óxido nítrico

PIFIR: Modelo dor-induzida por
incapacidade funcional em ratos (‘Pain-
induced functional impairment model in
the rat’)

ROS: Espécies reactivas de oxigénio

TBARS: Espécies reativas ao ácido
tiobarbitúrico (‘Thiobarbituric acid
reactive substances’)

TEAC: Capacidade antioxidante
equivalente ao Trolox (‘Trolox equivalent
antioxidant capacity’)

TNF- α : Factor de necrose tumoral

Índice

Introdução.....	7
Plantas medicinais - Perspectivas	9
Passado.....	10
Presente	11
Futuro.....	12
Vantagens e Limitações da utilização de plantas como fonte de medicamentos	14
Vantagens.....	14
Limitações.....	15
Família Lamiaceae (Labiatae)	18
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	20
Resultados.....	23
Extractos Vegetais	23
Compostos Biológicos	25
Actividades Biológicas	28
Actividade Anti-inflamatória e Analgésica.....	29
Actividade Antioxidante	30
Actividade Anticancerígena	31
Actividade Anti-infecciosa.....	32
Actividades ao nível do Sistema Nervoso Central e Sistema Endócrino.....	33
Conclusão	34
Bibliografia.....	36
Apêndices	60
Apêndice I.....	I
Apêndice II	II
Apêndice III	V

Índice de Figuras

Figura 1 - <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	20
Figura 2 – Exemplo prático do método utilizado para a análise dos dados bibliográficos, nomeadamente na contabilização de artigos e estudos de <i>R. officinalis</i>	22
Figura 3 - Número de artigos publicados desde a década de 90 até 30 de Novembro de 2014	23
Figura 4 - Estrutura química de três importantes compostos presentes em <i>R. officinalis</i>	26
Figura 5 - Percentagem de estudos de actividade biológica associados a cada composto	27
Figura 6 - Relação do nº de estudos (em %) com as actividades biológicas estudadas de <i>R. officinalis</i> ;	29
Figura 7 – Relação das actividades biológicas com os respectivos compostos de <i>R. officinalis</i>	31

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Classificação científica de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	20
Tabela 2 - Exemplo de alguns compostos bioactivos extraídos por diferentes solventes	25
Tabela 3 - Evolução dos estudos com compostos ao longo dos anos.....	28
Tabela 4 - Evolução do número de estudos de actividade biológica de <i>R. officinalis</i> ao longo dos anos;	32

Introdução

As plantas desde sempre desempenharam um papel essencial no tratamento de doenças humanas e de animais (Batanouny, Aboutabl, Shabana, M., & Soliman, 1999). Estas constituem um recurso terapêutico na saúde muito utilizado pelas populações tradicionais em todo o mundo, havendo um crescente interesse e redescoberta no uso das plantas medicinais e aromáticas (Batanouny et al., 1999).

A natureza, desde há milhares de anos, tem sido uma fonte de compostos medicinais, e grande parte dos fármacos modernos têm sido desenvolvidos a partir de compostos isolados de plantas, muitos baseados no seu uso na medicina tradicional (Cragg & Newman, 2002).

As plantas podem ter um papel importante na investigação farmacológica e no desenvolvimento de medicamentos, não só quando os compostos bioactivos são utilizados directamente como agentes terapêuticos, mas também quando são utilizados como material de partida para a síntese de fármacos ou como modelo para o desenvolvimento de novos compostos farmacologicamente activos (Mendonça-Filho, 2006; Swain, 1972).

No entanto, a validação e utilização de plantas como produto fitofarmacêutico necessita de muita pesquisa básica e aplicada, a fim de colocar este recurso ao mesmo nível que os produtos farmacêuticos convencionais (Batanouny et al., 1999).

Sendo uma das maiores famílias, que cada vez mais ganha maior relevância medicinal, a Lamiaceae alberga várias plantas como o Alecrim, Tomilho, Sálvia, Menta e Lavanda. No entanto é fundamental que sejam feitos mais estudos farmacológicos a fim de comprovar a eficácia, segurança e qualidade, para que se consiga assim alcançar a aceitação por parte da comunidade médica.

Devido ao crescente interesse pelas plantas medicinais é fundamental que se escrevam revisões de forma a organizar e sistematizar os estudos feitos. Desta forma, para colmatar o número muito diminuto e desactualizado de revisões sobre a *Rosmarinus officinalis* L., esta dissertação assenta no estudo do Alecrim, espécie endémica em Portugal e com vastos usos tradicionais, tendo como objectivo identificar os seus principais compostos bioactivos e a sua interligação com as actividades farmacológicas. Pretende-se também com este trabalho, mostrar uma noção da progressão ao longo dos anos sobre a investigação e relevância sobre esta espécie. Para tal, é feita uma revisão bibliográfica sistemática e exaustiva de artigos e trabalhos previamente publicados, permitindo elaborar uma análise quantitativa e qualitativa dos estudos, a fim de dar a conhecer a *R. officinalis*, uma planta com excelentes potencialidades para o desenvolvimento/síntese de novos fármacos.

Foi adoptada a Norma ‘American Psychological Association’ (APA), 6º edição, para citações e referenciação bibliográfica.

Plantas medicinais - Perspectivas

Uma preparação fitofarmacêutica ou medicamento à base de plantas (MBP) é qualquer medicamento obtido exclusivamente a partir de plantas, quer em estado bruto ou como formulação farmacêutica (Rates, 2001).

O uso de plantas medicinais com propriedades terapêuticas tem desempenhado um papel significativo ao longo da história, e, embora o seu uso tenha diminuído com o início da era científica, tem havido um crescente interesse no seu potencial, especialmente no desenvolvimento de novos fármacos, desde o final do século XX (Mohamed, Shuid, Borhanuddin, & Fozi, 2012).

Embora a revolução industrial e o desenvolvimento da química orgânica tenha resultado numa preferência por produtos sintéticos, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reporta que cerca de 80% dos cidadãos na maioria dos países em desenvolvimento ainda dependem da medicina tradicional como principal fonte de cuidados de saúde (Ahmad, Aqil, Ahmad, & Owais, 2006; Bandaranayake, 2006; Calixto, 2005; Cragg & Newman, 2002; Evans, 2009; Krogsgaard-Larsen, Christensen, & Kofod, 1994; Mohamed et al., 2012).

Aproximadamente 25% dos medicamentos prescritos em todo o mundo são provenientes de plantas (Bandaranayake, 2006; Krogsgaard-Larsen et al., 1994; Robbers, Speedie, & Tyler, 1996; Rout, Choudary, Kar, Das, & Jain, 2009). Os medicamentos considerados básicos e essenciais pela OMS são cerca de 250 dos quais 11% são exclusivamente de origem vegetal. A grande maioria dos fármacos sintéticos são originários de precursores naturais e mais de 60% dos medicamentos anti-tumorais e anti-infecciosos têm como base as plantas (Rates, 2001; Samuelsson & Bohlin, 2010).

O uso abusivo e/ou incorrecto dos fármacos sintéticos na medicina convencional devido à sua ineficiência ocasional, resulta em efeitos indesejáveis. Uma grande percentagem da população mundial não tem acesso ao tratamento farmacológico convencional, e a ideia de que os produtos naturais são inofensivos, levam a um crescente interesse nos MBP (Bandaranayake, 2006; Heinrich, Barnes, Gibbons, & Williamson, 2012; Rates, 2001; Robbers et al., 1996).

Em comparação com a medicina moderna, os MBPs são mais baratos, são frequentemente usados no tratamento de doenças crónicas, e a ocorrência de efeitos indesejáveis parece ser menos frequente (Bandaranayake, 2006).

Deste modo, conclui-se que, as plantas albergam ainda muitas espécies com substâncias de valor medicinal por descobrir (Evans, 2009).

Passado

Ao longo dos séculos os humanos têm utilizado as plantas como fonte de alimento, vestuário, abrigo, e outros fins adicionais, como na utilização de substâncias venenosos para a caça, como alucinogénios em rituais, estimulantes, e medicamentos (Cragg & Newman, 2002; Salim, Chin, & Kinghorn, 2008).

A medicina à base de plantas tem sido utilizada ao longo da história, constituindo a forma mais antiga de cuidados de saúde da Humanidade (Bandaranayake, 2006). Os povos primitivos aprenderam, por experimentação, a distinguir as plantas úteis, com efeitos benéficos, das tóxicas ou inactivas, e também quais as combinações ou métodos de tratamento para obtenção dos melhores resultados (Bandaranayake, 2006).

As plantas formam a base da medicina tradicional, através das práticas que têm sido utilizadas há milhares de anos por pessoas na China, Índia e muitos outros países (Salim et al., 2008).

A medicina tradicional pode ser amplamente classificada em quatro sistemas básicos: a Medicina Ayurvédica (que significa "a ciência da vida"), originária da Índia há mais de 5000 anos; a Medicina Chinesa, que constitui uma parte da medicina tradicional oriental; a Medicina Africana; e a Medicina Ocidental, originária da Grécia e Roma, espalhando-se depois para a Europa e Norte e Sul da América (Bandaranayake, 2006).

A medicina Ayurvédica continua a ser um dos mais antigos sistemas de medicina tradicional, actualmente praticada na Índia, Sri Lanka e outros países, e com mais de 1000 plantas descritas na Farmacopeia Ayurveda (Mohamed et al., 2012; Rout et al., 2009).

Existem vários registos sobre a utilização de plantas, como o Papiro de Ebers (1550 a.C.), e *De Materia Medica*, escrito por Dioscórides (77 d.C), o qual descreve mais de 600 plantas medicinais (Samuelsson & Bohlin, 2010).

Durante a Idade Média houve muito poucos progressos no desenvolvimento da medicina à base de plantas (Samuelsson & Bohlin, 2010).

Em 1805, a morfina tornou-se no primeiro composto puro farmacologicamente activo a ser isolado a partir de uma planta, embora só se tenha esclarecido a sua estrutura em 1923 (Salim et al., 2008).

No século XIX isolaram-se inúmeros alcalóides, como a atropina (*Atropa belladonna*), cocaína (*Erythroxylum coca*), efedrina (espécies de *Ephedra*), codeína (*Papaver somniferum*), pilocarpina (*Pilocarpus jaborandi* Holmes), e fisostigmina (*Physostigma venenosum*), os quais continuam a ser bastante utilizados em medicamentos prescritos (Salim et al., 2008).

As plantas medicinais continuaram a ser a principal fonte de produtos utilizados em saúde na medicina convencional ocidental, até ao século XIX, quando Friedrich Wohler sintetizou a ureia, em 1828 (Mendonça-Filho, 2006). Esta primeira síntese orgânica na história Humana iniciou a era dos compostos sintéticos, sendo que nos 100 anos seguintes, os fármacos sintéticos tornaram-se o pilar da medicina convencional, com a fitoterapia a decair (Mendonça-Filho, 2006).

A Revolução Industrial e o desenvolvimento da química orgânica resultaram numa preferência por produtos sintéticos como tratamento farmacológico (Rates, 2001). Com o poder económico das empresas farmacêuticas a aumentar, os compostos puros seriam facilmente obtidos e as modificações estruturais para produzir fármacos mais eficazes e seguros poderiam ser facilmente realizadas (Rates, 2001).

Presente

A maioria da população dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional à base de plantas como principal fonte no tratamento de doenças (Heinrich et al., 2012; Iwu, 2002; Krogsgaard-Larsen et al., 1994; Mohamed et al., 2012; Salim et al., 2008).

O interesse na medicina à base de plantas para o desenvolvimento de fármacos aumentou bastante no início de 1980 (Mendonça-Filho, 2006). Este interesse surgiu devido à ineficácia da medicina convencional (devido principalmente à citotoxicidade e aos efeitos secundários). Devido ao facto de os medicamentos oferecerem muito pouco conforto no tratamento de doenças crónicas em comparação com o uso de extractos de plantas. Devido ao uso abusivo e incorrecto de fármacos sintéticos e, mais importante, ao elevado custo envolvido na medicina convencional e ao facto de grande percentagem da população mundial não ter acesso a tratamentos farmacológicos (Mukherjee, N, & Heinrich, 2008; Rates, 2001).

Com as limitações da síntese química, surge também a necessidade de encontrar novos medicamentos para combater o aparecimento de microorganismos multirresistentes, e o tratamento de doenças como o cancro, diabetes e o síndrome da imunodeficiência adquirida (Mendonça-Filho, 2006). Assim, os produtos naturais oferecem uma variedade estrutural incomparável (Mohamed et al., 2012).

O estudo e desenvolvimento de terapêuticas de origem vegetal é uma tarefa árdua e envolve elevados custos (Rates, 2001). Cada fármaco novo exige um investimento de cerca de 800 milhões de dólares e um mínimo de 10 anos de trabalho, sendo apenas um em cada 10 mil compostos testados considerado promissor (Balunas & Kinghorn, 2005; Rates, 2001).

Em 1997, o mercado mundial de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) à base de plantas foi de 10 biliões de dólares, com um crescimento anual de 6,5% (Mohamed et al., 2012). Em 2001 e 2002, aproximadamente um quarto dos medicamentos mais vendidos no mundo foram produtos naturais ou seus derivados (Balunas & Kinghorn, 2005). Em 2003, o crescimento superou as expectativas, atingindo vendas superiores a 65 biliões de dólares, com 9 biliões na Europa, sendo a Alemanha a líder do mercado europeu (Mohamed et al., 2012). Estima-se que, em 2009, o valor total do mercado dos MBPs era de cerca de 83 biliões de dólares (Heinrich et al., 2012).

A relação custo-eficácia do desenvolvimento de fármacos provenientes de plantas medicinais tem tido cada vez maior aceitação, com grandes empresas farmacêuticas a direccionar os seus investimentos para esta área, como a Merck, Bayer, Roche, Boehringer e Syntex, que têm agora departamentos específicos para o estudo de MBPs (Mukherjee et al., 2008; Rates, 2001).

As plantas podem ser utilizadas como recursos terapêuticos sob a forma de infusão de ervas ou outros remédios caseiros, preparações farmacêuticas (como extractos, comprimidos, cápsulas), e extracção e purificação de compostos activos (Mohamed et al., 2012; Rates, 2001). Os compostos naturais podem levar à obtenção de substâncias activas, permitindo a concepção e planeamento de novos medicamentos, mas podem também levar ao desenvolvimento da síntese biomimética (utilização como precursores), e por fim à descoberta de novas propriedades farmacológicas ainda não atribuídas a compostos conhecidos (Hamburger & Hostettmann, 1991; Iwu, 2002).

Com base nos princípios da fitoterapia, uma planta contém um número de compostos farmacologicamente activos que devem ser vistos como uma unidade única (Mohamed et al., 2012). Todo o extracto pode ser padronizado e clinicamente testado para uma condição clínica específica (Mohamed et al., 2012). Esta característica diferencia a fitoterapia da farmacoterapia convencional (Mohamed et al., 2012).

Futuro

Apenas cerca de 10% das 250 mil espécies de plantas estimadas em todo o mundo foram estudadas cientificamente com potencial, para uso na medicina (Cragg & Newman, 2002; Heinrich et al., 2012), e 60 mil espécies irão provavelmente extinguir-se até ao ano 2050, sendo assim urgente a pesquisa de novos compostos de interesse terapêutico (Mukherjee et al., 2008).

Para que se consiga utilizar plenamente os recursos disponíveis para o desenvolvimento de fármacos, é essencial que se colmatem os problemas socioculturais e económicos, a falta de estratégias e planeamento, bem como a falta de acesso à informação científica (Mohamed et al., 2012). É importante o incentivo a mais estudos etnobotânicos entre os povos aborígenes antes que estes se extingam (Evans, 2009; Mohamed et al., 2012). No entanto, é crucial proteger e promover a exploração racional da biodiversidade como fonte de compostos, para que não ocorra a extinção de algumas espécies de plantas, o que significaria a perda de genes e potenciais fármacos (Rates, 2001).

A qualidade dos MBPs é influenciada pelas práticas regulatórias (Mendonça-Filho, 2006). Em vários países, os fitoterápicos não são controlados, o que tem levado a diferenças na sua qualidade, factor que se opõe à aceitação e confiança nestes produtos por parte da comunidade médica (Mendonça-Filho, 2006). Assim, o controlo de qualidade tem um papel significativo para as indústrias farmacêuticas para que prosperem e sejam bem sucedidas, sendo fundamental instituir *guidelines* internacionalmente reconhecidas (Bandaranayake, 2006).

É primordial que se estabeleçam ligações profissionais entre as empresas, o governo, as grandes indústrias farmacêuticas e as instituições académicas, para fomentar o desenvolvimento e expansão da medicina à base de plantas, promovendo a exploração consciente da biodiversidade como fonte de compostos químicos e o seu uso no desenvolvimento de novos fármacos (Calixto, 2005; Cordell & Colvard, 2005; Mendonça-Filho, 2006; Mohamed et al., 2012).

Crê-se que a produção de fitoterápicos exigirá monoculturas geneticamente uniformes de plantas, cultivadas em condições totalmente controladas, garantindo uma consistência bioquímica e optimização da segurança e eficácia destes produtos (Raskin et al., 2002). É necessário desenvolver tecnologias inovadoras de isolamento, purificação e caracterização estrutural, para uma melhor descoberta e desenvolvimento de novos MBPs (Cordell & Colvard, 2005; Raskin et al., 2002; Rout et al., 2009).

Vantagens e Limitações da utilização de plantas como fonte de medicamentos

Vantagens

1.1. Estudos etnobotânicos

A selecção de uma espécie de planta candidata para investigação pode ser feita com base no seu uso a longo prazo pelos humanos (Etnobotânica) (Katiyar, Gupta, Kanjilal, & Katiyar, 2012).

A informação baseada no uso de determinadas plantas pelas populações tradicionais, sugerindo que estas poderão ser úteis como fármacos, permite racionalizar que quaisquer compostos activos isolados tendem a ser mais seguros do que os compostos activos de plantas sem registos de uso humano, ao seja, permite uma abordagem mais segura baseada em informação prévia, como indicações farmacológicas e toxicológicas, uma vez que as plantas têm sido testadas por milhares de anos em pessoas (Fabricant & Farnsworth, 2001; Rates, 2001; Rout et al., 2009).

1.2. Fonte Renovável

As plantas são uma fonte renovável de compostos, permitindo a sua colheita e cultivo em quase todos os casos. Estas constituem uma fonte ilimitada de estruturas químicas novas e complexas que provavelmente nunca seriam investigadas e produzidas como síntese de fármacos, como por exemplo, a vinblastina, a vincristina, o taxol, e a digoxina (Fabricant & Farnsworth, 2001; Robbers et al., 1996).

1.3. Descoberta de novas moléculas a partir de compostos isolados

Por vezes, o isolamento de um composto pode levar ao desenvolvimento de novas moléculas derivadas, devido às limitações inerentes da molécula original (Katiyar et al., 2012). Com a podofilina, por exemplo, um composto extraído da *Podophyllum hexandrum*, onde se verificaram problemas de toxicidade dose-limitante (Katiyar et al., 2012). Estas limitações puderam ser ultrapassadas, em grande parte, pela semi-síntese do etopósido, que continua ainda hoje a ser utilizado no tratamento do cancro (Katiyar et al., 2012). Outro exemplo, foi a descoberta de novas moléculas anticancerígenas, como o irinotecano e o topotecano, derivados do composto isolado de *Camptotheca* sp. e posteriormente de *Mappia* sp (camptotecina) (Katiyar et al., 2012).

1.4. Farmacocinética/Farmacodinâmica

A forma de dosagem da maioria das preparações à base de plantas, a infusão, tem uma clara vantagem na biodisponibilidade face às formas de dosagem convencionais (Iwu, 2002). A solubilidade e dispersão aumentada das moléculas activas nos locais de absorção gastrointestinal, reduz significativamente os problemas e incertezas encontradas na fase farmacodinâmica da terapia medicamentosa (Iwu, 2002).

Os MBPs são mais adequados para o tratamento de doenças que requerem medicação de longo prazo, como a artrite e os problemas hepatobiliares, isto porque a maioria dos extractos de plantas são normalmente utilizados, não em doses elevadas para resultados imediatos, mas sim em doses baixas repetidas produzindo o resultado desejado por longos períodos de tempo (Iwu, 2002).

As plantas proporcionam um efeito terapêutico desejável com risco reduzido de complicações iatrogénicas, como efeitos adversos, muitas vezes associadas à medicação convencional (Iwu, 2002). O tratamento combinado entre medicamentos à base de plantas e medicamentos sintéticos pode reduzir alguns dos efeitos adversos de fármacos muito potentes (Iwu, 2002).

Limitações

2.1 Reprodutibilidade da actividade biológica

Uma das principais limitações do uso de plantas na área fitofarmacêutica é a falta de reprodutibilidade da actividade em mais de 40% dos extractos de plantas, pois as actividades detectadas nos rastreios muitas vezes não se verificam quando as amostras são re-extraídas (Ahmad et al., 2006; Krogsgaard-Larsen et al., 1994; Raskin et al., 2002). Este problema ocorre, em grande parte, devido a diferenças nos perfis bioquímicos das plantas colhidas em diferentes épocas e localizações, variações no mesmo género de planta, e variações nos métodos utilizados para a extracção e determinação da actividade biológica (Ahmad et al., 2006; Kamboj, 2012; Raskin et al., 2002). Além disso, a eficácia e a actividade de um extracto muitas vezes não resulta da acção de apenas um fitocomposto, mas sim de um efeito sinérgico entre os vários compostos (ex. *Panax ginseng*) (Ahmad et al., 2006; Mohamed et al., 2012). Por vezes, na tentativa de isolar um constituinte de uma planta, pode-se, inadvertidamente, excluir fitocompostos com actividade farmacológica relevante (Ahmad et al., 2006; Mohamed et al., 2012).

2.2 Toxicidade e efeitos adversos

A sociedade, em geral, considera as ervas medicinais e as plantas como muito mais seguras do que os produtos farmacêuticos convencionais, devido à sua origem “natural”, no entanto estas devem ser equiparadas a qualquer outro medicamento (Ahmad et al., 2006; Heinrich et al., 2012).

Os efeitos tóxicos na medicina à base de plantas podem ocorrer devido à existência de fitotoxinas, erros de identificação botânica, a combinações inadequadas de plantas, acidentes com espécies cardiotónicas e ao uso de plantas que interferem com a farmacoterapia convencional (Goldman, 2001; Heinrich et al., 2012; Rates, 2001). Assim, os níveis de toxicidade de uma planta dependem da sua pureza, da presença de substâncias tóxicas, da biodisponibilidade e dos efeitos adversos reportados (Ahmad et al., 2006).

Os produtos químicos tóxicos e outros contaminantes, incluindo microorganismos, podem resultar das condições ambientais e agrícolas onde as plantas foram cultivadas ou colhidas, das condições de transporte e acondicionamento, ou mesmo durante o fabrico, processamento e embalagem (Ahmad et al., 2006).

2.3 Adulteração e contaminação

Os MBPs podem ser adulterados e contaminados em países onde a regulação do controlo da pureza e qualidade é negligente (Ahmad et al., 2006; Mohamed et al., 2012). Em muitos casos, estes produtos adulterados podem causar problemas de saúde significativos, especialmente em crianças (Ahmad et al., 2006).

Os produtos ayurvédicos são muitas vezes preparados com compostos inorgânicos activos, que, combinando com a contaminação ambiental (como pesticidas), pode aumentar o teor de metais pesados acima dos limites admissíveis (Ahmad et al., 2006).

2.4 Interação planta-medicamento

É de especial preocupação o uso de MBPs por pessoas que já tomam outros medicamentos prescritos, uma vez que pode ocorrer uma interação entre fármacos (Heinrich et al., 2012). O perfil farmacocinético de fármacos pode ser alterado quando administrados concomitantemente com fitoterápicos (Ahmad et al., 2006; Mohamed et al., 2012). Estas interações podem potenciar ou antagonizar a absorção e o metabolismo de fármacos (inibição do citocromo P450), bem como despoletar efeitos adversos (Mohamed et al., 2012; Nguyen et

al., 2014). No entanto, é de salientar que a medicina à base de plantas tem o nível mais baixo (7,6%) de efeitos adversos reportados em comparação com outros tipos de medicina complementar e alternativa (Ahmad et al., 2006; Mohamed et al., 2012).

2.5 Padronização dos MBPs

A padronização pode ser definida como a normalização de um extracto que pode ter uma quantidade mínima de um ou vários compostos (Heinrich et al., 2012). Isto permite a comparação da eficácia, efeitos farmacológicos e efeitos adversos entre vários produtos (Heinrich et al., 2012).

No entanto, a fitoterapia raramente satisfaz as normas de padronização (Ahmad et al., 2006; Goldman, 2001). Em grande parte, devido à falta de informações sobre os compostos farmacologicamente activos e o facto de as plantas não serem cultivadas em ambiente controlado (Ahmad et al., 2006; Goldman, 2001). A variabilidade no conteúdo e concentração dos constituintes numa planta, juntamente com as diversas técnicas de extracção e processamento utilizados por diferentes fabricantes, levam a variabilidades no conteúdo e qualidade dos MBPs comercializados (Ahmad et al., 2006; Fabricant & Farnsworth, 2001; Goldman, 2001; Iwu, 2002).

A consistência na composição e actividade biológica são pré-requisitos para o uso seguro e eficaz dos produtos terapêuticos (Ahmad et al., 2006). No entanto, a padronização das formas de dosagem nem sempre é fácil, principalmente em preparações com mais do que uma planta (Ahmad et al., 2006; Iwu, 2002).

2.6 Isolamento em pequenas quantidades

O desenvolvimento de medicamentos a partir de plantas medicinais enfrenta ainda outro desafio. Os compostos bioactivos são normalmente isolados em pequenas quantidades, sendo insuficiente para todas as fases do desenvolvimento e produção de um novo medicamento, por isso, é essencial a colaboração entre investigadores de diferentes áreas para determinar se é possível a síntese total ou semi-síntese do composto activo (Balunas & Kinghorn, 2005; Rout et al., 2009; Salim et al., 2008).

Família Lamiaceae (Labiatae)

A família Lamiaceae é uma das maiores e mais distintas famílias de plantas com flor, abrangendo cerca de 236 géneros e 6900 a 7200 espécies em todo o mundo (Naghibi, Mosaddegh, Motamed, & Ghorbani, 2005; Raja, 2012). Alguns géneros como *Nepeta*, *Phlomis*, *Eremostachys*, *Salvia* e *Lagochilus* têm uma grande diversidade na Ásia e áreas Mediterrânicas (Evans, 2009; Heinrich et al., 2012; Naghibi et al., 2005).

O nome original da família é Labiatae, porque as flores têm geralmente pétalas fundidas num lábio superior e lábio inferior, embora actualmente a maioria dos botânicos use o nome Lamiaceae (Raja, 2012).

A Lamiaceae é muito conhecida pelos óleos essenciais biologicamente activos, comuns a muitos membros da família, pela presença de diterpenos nas suas espécies, pelas suas ervas ornamentais e culinárias como o manjeriço, lavanda, hortelã, alecrim, sálvia e o tomilho (Naghibi et al., 2005; Wagstaff, Hickerson, Spangler, Reeves, & Olmstead, 1998).

A região Mediterrânica tem sido o principal centro de domesticação e cultivo de plantas Lamiaceae (Nguyen et al., 2014). Estas são comuns em países do Mediterrâneo pelo facto de algumas das plantas produzirem uma grande quantidade de óleo essencial que lhes permite sobreviver à estação quente de verão (Raja, 2012).

Esta família engloba géneros como *Mentha*, *Thymus*, *Salvia*, *Origanum* e *Coleus*, constituindo uma das principais fontes de plantas medicinais, ornamentais e aromáticas em todo o mundo (Naghibi et al., 2005).

Vários estudos relatam a presença de grande variedade de compostos como terpenóides, iridóides, flavonóides e compostos fenólicos, nas plantas desta família (Naghibi et al., 2005). Alguns dos terpenos de cadeia curta presentes nos óleos essenciais têm características odoríferas e olfactivas, sendo algumas espécies de *Lavandula* utilizadas em perfumes (Naghibi et al., 2005). Os compostos diterpénicos tricíclicos presentes nas folhas de *Plectranthus*, e outras espécies, têm propriedades antioxidantes (Naghibi et al., 2005). A família Lamiaceae possui espécies de plantas que contêm grandes quantidades de ácidos fenólicos, como o ácido rosmarínico, o qual tem propriedades antibacteriana, antiviral, antioxidante e anti-inflamatória (Naghibi et al., 2005).

Muitas espécies desta família têm sido alvo de estudos experimentais, confirmando a eficácia de algumas aplicações tradicionais (Naghibi et al., 2005).

A *Thymus* spp (tomilho) tem actividade antibacteriana, devido à presença de timol, e pode ser utilizada como desinfectante; o óleo de lavanda, que contém compostos terpénicos, é

usado no tratamento da caspa e crescimento de cabelo, e também possui propriedade antimicrobiana, antiviral e antifúngica; as partes aéreas de *Stachys lavandulifolia* Vahl. são eficazes na melhoria de transtornos de ansiedade, devido à presença da apigenina e luteolina na planta; a *Lavandula angustifolia* Mill é utilizada na inflamação, tosse, problemas digestivos e como sedativo; os compostos como o 1,8-cineol são muito comuns no género *Nepeta*, verificando-se actividade expectorante, anti-séptica e anti-helmíntica (Naghibi et al., 2005).

As plantas da família Lamiaceae são bastante ricas em propriedades medicinais com grande valor para a medicina natural e descritas nas farmacopeias (Raja, 2012).

As folhas de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) têm uso tradicional com base nas suas actividades antibacterianas e carminativas (Begum et al., 2013; Evans, 2009; Heinrich et al., 2012). O alecrim é utilizado como analgésico em dores musculares e articulações (Al-Sereiti, Abu-Amer, & Sen, 1999; Begum et al., 2013; WHO, 2009; Wichtl, 2004). Na medicina tradicional é também utilizado para tratar pequenas feridas, eczemas, dor de cabeça, dispepsia, problemas de circulação, mas também como expectorante, diurético e antiespasmódico nas cólicas renais (Al-Sereiti et al., 1999; Begum et al., 2013; Ulbricht et al., 2010; WHO, 2009).

A *Salvia officinalis* L., usada como infusão, é utilizada no tratamento da faringite, úlceras bocais, e dores gengivais, devido às suas propriedades anti-sépticas e adstringentes, reconhecidas na British Herbal Pharmacopeia (Evans, 2009; Heinrich et al., 2012; Wichtl, 2004). O seu uso é reconhecido nas infecções e inflamação da boca e garganta (ESCOP, 2003). Tradicionalmente têm sido utilizadas no tratamento da faringite, estomatite, gengivite (Barnes, Anderson, & Phillipson, 2007).

Nos seguintes capítulos abordar-se-ão mais aprofundadamente uma importante espécie da família Lamiaceae, a *Rosmarinus officinalis* L. a qual é muito comum em Portugal, focando maioritariamente as suas actividades biológicas e compostos.

Rosmarinus officinalis L.

A *Rosmarinus officinalis* L., conhecida popularmente como alecrim, é originária da Região Mediterrânica e cultivada em quase todos os países de clima temperado, como Portugal, tendo sido utilizada ao longo dos anos pelas suas qualidades aromáticas e medicinais (Begum et al., 2013; WHO, 2009). Na Grécia Antiga e Roma acreditava-se que o alecrim promovia a memória e Hipócrates, Galeno, e Dioscórides utilizavam esta planta para problemas de fígado (Begum et al., 2013).

O alecrim é um arbusto denso, ramificado, de folha persistente e flor azul-esbranquiçada, podendo atingir uma altura de cerca de 1 metro (Al-Sereiti et al., 1999; WHO, 2009). Caracteriza-se pelas folhas com 1 a 4cm de comprimento e 2 a 4mm de largura, sésseis, coriáceas, lineares a lineares-lanceoladas, com margens recurvadas, página superior verde-escura e granulosa e página inferior tomentosa, com nervura mediana saliente, apresentando cheiro muito característico (Begum et al., 2013; Comissão Permanente da Farmacopeia Portuguesa, 2002; WHO, 2009).



Figura 1 - *Rosmarinus officinalis* L. (Ulbricht et al., 2010)

Tabela 1 – Classificação científica da *Rosmarinus officinalis* L.; (Begum et al., 2013)

Classificação Científica	
Reino	Plantae
Sub-reino	Tracheobionta
Superdivisão	Spermatophyta
Divisão	magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Subclasse	Asteridae
Ordem	Lamiales
Família	Lamiaceae
Género	<i>Rosmarinus</i> L.
Espécie	<i>officinalis</i>
Nomenclatura Binominal	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

De forma a identificar e analisar os principais compostos bioactivos da *R. officinalis* e rever as suas actividades farmacológicas, foi feita uma pesquisa exaustiva na base de dados *online* 'PUBMED' de artigos sobre o alecrim e/ou sobre os seus compostos, sendo incluídos os estudos reportados entre 1 de Janeiro de 1990 e 30 de Novembro de 2014.

Os termos de pesquisa foram 'rosmarinus officinalis' e 'rosemary', e foram incluídos os artigos íntegros (de acesso total) sobre estudos de actividade medicinal da *R. officinalis*, incluindo estudos de várias plantas das quais o alecrim, ou sobre os seus compostos isolados. A linguagem foi limitada ao Português, Inglês e Espanhol.

Foram excluídos artigos de publicações com acesso limitado ao 'abstract', artigos relacionados com a área da nutrição (conservação e estabilidade de alimentos), artigos com resultados não relevantes/não confirmativos de actividade biológica e artigos sem interesse para os objectivos desta pesquisa.

Tendo em conta as revisões sobre o alecrim anteriormente publicadas, revisões narrativas, (Al-Sereiti et al., 1999; Begum et al., 2013; Faixová & Faix, 2008; Ulbricht et al., 2010), este trabalho vem acrescentar pela primeira vez uma revisão sistemática, com análise estatística, permitindo ter noção do estado actual das investigações feitas sobre *R. officinalis*. Este trabalho, em comparação com outros, aborda não só os óleos essenciais do alecrim mas também os seus compostos isolados, fazendo a ponte com as respectivas actividades biológicas. Tendo em conta que a pesquisa de artigos foi limitada à base de dados PUBMED, alguns dos artigos utilizados em revisões do alecrim previamente publicadas podem não ter sido incluídos, no entanto não quer dizer que foram menosprezados.

Após a pesquisa bibliográfica foram recolhidos 232 artigos englobando 286 estudos de actividades biológicas (existem artigos que testam mais do que uma actividade), dos quais 275 estudos de actividade associada a compostos.

A Figura 2 ilustra o método aplicado na análise e tratamento dos dados.

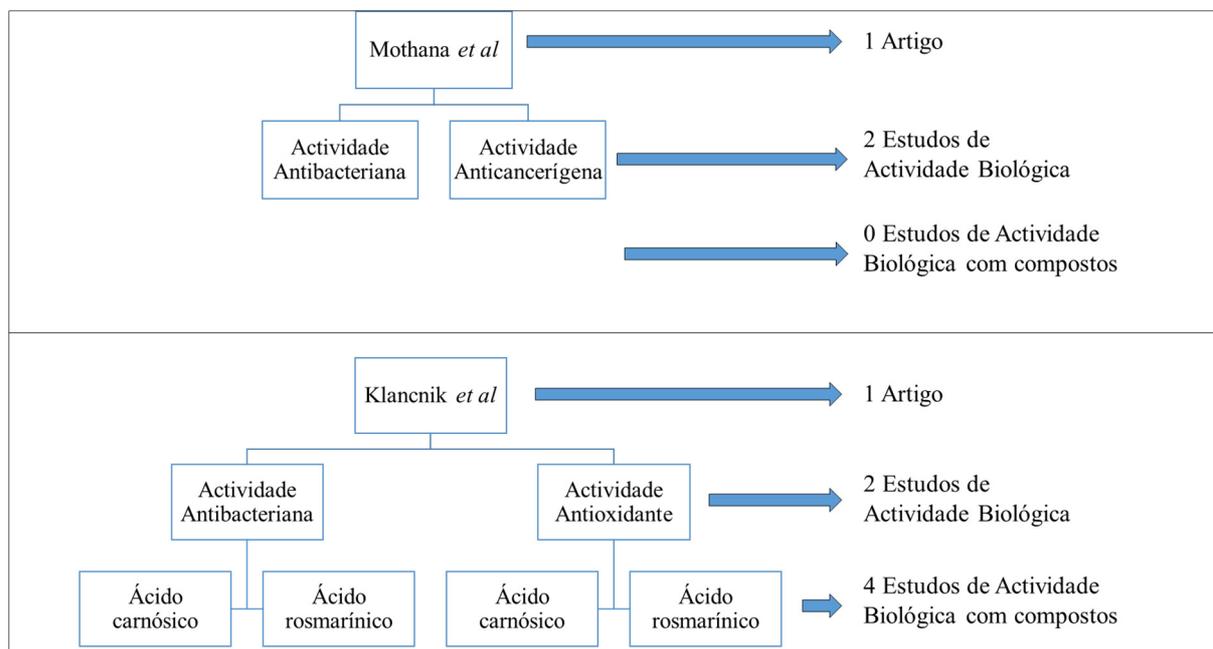


Figura 2 – Exemplo prático do método utilizado para a análise dos dados bibliográficos, nomeadamente na contabilização de artigos e estudos de *R. officinalis*;

Resultados

Pelo gráfico da Figura 3 consegue-se observar uma clara tendência no aumento do número de artigos de *R. officinalis* ao longo dos anos. O interesse nesta planta traduz-se pela elevada quantidade de investigações feitas desde 2010, cerca de 135, número que tende a aumentar.

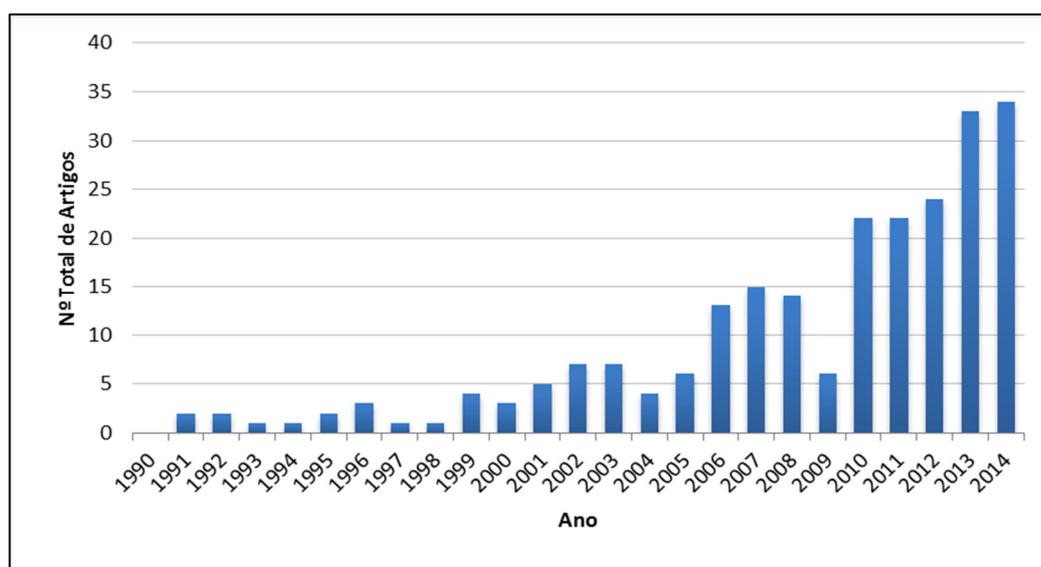


Figura 3 - Número de artigos publicados desde a década de 90 até 30 de Novembro de 2014;

Extractos Vegetais

A extracção é a separação de porções biologicamente activas de plantas, utilizando solventes selectivos através de procedimentos padrão (Handa, 2008).

As técnicas de extracção permitem separar os metabolitos solúveis de plantas, originando misturas complexas em estado líquido ou semi-sólido, ou após a remoção do solvente, na forma de pó seco (Handa, 2008).

Um processo típico de extracção inicia-se com a recolha e autenticação do material vegetal e a sua secagem, seguido da redução do tamanho da amostra, extracção, filtração, concentração, secagem (evaporação do solvente) e reconstituição (Gupta, Naraniwal, & Kothari, 2012; Handa, 2008).

Os estudos qualitativos e quantitativos de compostos bioactivos de origem vegetal dependem muito da escolha adequada do método de extracção, desempenhando um papel crucial na obtenção de resultados (Azmir et al., 2013). Os factores que mais afectam o processo

de extracção estão relacionados com as propriedades da planta, com o solvente, temperatura, pressão e tempo (Azmir et al., 2013; Gupta et al., 2012; Handa, 2008).

Existem métodos clássicos de extracção, como Extracção por Soxhlet, Maceração, Decocção, Infusão, etc, e métodos modernos como a Extracção por Fluido Supercrítico, Microextracção por fase sólida, entre outros (Azmir et al., 2013; Gupta et al., 2012). A eficiência da extracção de qualquer método convencional depende principalmente da escolha de solventes, tendo em conta a polaridade do composto alvo (Azmir et al., 2013; Gupta et al., 2012).

Após análise dos artigos recolhidos verificam-se que os métodos de extracção mais utilizados para a obtenção de compostos bioactivos da *Rosmarinus officinalis* L., de acordo com as tabelas em apêndice I, II e III, incluem a Maceração, Hidrodestilação, Destilação por Soxhlet e Extracção por Fluido Supercrítico.

Na maceração o material vegetal é colocado em contacto com um solvente em agitação, à temperatura ambiente, durante determinado período de tempo, seguido de filtração ou decantação do líquido (Handa, 2008).

A Hidrodestilação é um método convencional para extracção de óleo essencial, não havendo envolvimento de solventes orgânicos, em que a amostra está em contacto com água em ebulição e/ou vapor de água permitindo o arrastamento dos compostos (Azmir et al., 2013; Handa, 2008).

Na Destilação por Soxhlet, a amostra é colocada na câmara envolta por papel de filtro ou algodão, e o solvente, em aquecimento, num balão de fundo redondo, que evapora e condensa no refrigerador de Allhin, caindo gota a gota sobre a amostra, enchendo o sifão e retornando o líquido ao balão (Azmir et al., 2013; Handa, 2008). Desta forma, uma maior quantidade de amostra pode ser extraída com uma menor quantidade de solvente, tornando o método mais económico (Handa, 2008).

A Extracção por Fluido Supercrítico é um processo que utiliza um fluido supercrítico, normalmente CO₂, como solvente de extracção em determinadas condições de pressão, fluxo e temperatura, permitindo uma maior penetração na amostra e de forma mais rápida e eficiente (Azmir et al., 2013; Gupta et al., 2012; Handa, 2008).

Para que se consiga obter os compostos vegetais alvo com a maior eficiência, é fundamental ponderar a escolha de solvente e o método de extracção (Gupta et al., 2012). Pelas tabelas em apêndice I, II e III, verifica-se que para a extracção dos constituintes activos desejados de *R. officinalis* L. são maioritariamente utilizados extractos aquosos, etanólicos,

metanólicos, e por vezes misturas de solventes. Estes solventes, tal como a tabela 2 indica, são de polaridade média a elevada, permitindo assim isolar os compostos de maior relevância científica (fenólicos, terpenos e flavonóides).

Tabela 2 - Exemplo de alguns compostos bioativos extraídos por diferentes solventes; (Azmir et al., 2013)

Água	Etanol	Metanol	Clorofórmio	Diclorometano	Éter	Acetona
Antocianinas	Taninos	Antocianinas	Terpenóides	Terpenóides	Alcalóides	Flavonóides
Taninos	Polifenóis	Terpenóides	Flavonóides		Terpenóides	
Saponinas	Flavonol	Saponinas				
Terpenóides	Terpenóides	Taninos				
	Alcalóides	Flavonas				
		Polifenóis				

Compostos Bioativos

Ao longo dos anos as plantas medicinais têm sido utilizadas como agente terapêutico, havendo um crescente interesse no seu estudo (Lovkova, Buzuk, Sokolova, & Kliment'eva, 2001). Estas sintetizam e acumulam compostos fisiologicamente activos (metabolitos secundários) como alcalóides, compostos fenólicos, glicosídeos, terpenóides, saponinas, que podem exercer determinadas actividades farmacológicas (antibacteriana, sedativa ou mesmo anticancerígena, entre outras) (Lovkova et al., 2001).

O alecrim é principalmente constituído por compostos fenólicos, di- e triterpenos, e óleo essencial (Begum et al., 2013; Samuelsson & Bohlin, 2010; Ulbricht et al., 2010; WHO, 2009).

Os polifenóis são compostos químicos responsáveis principalmente pela coloração dos frutos (Doughari, 2012). Estes classificam-se em ácidos fenólicos, flavonóides e não-flavonóides (Doughari, 2012). Para além das suas propriedades antioxidantes, desempenham um papel muito importante na defesa da planta contra patogénios e predadores herbívoros e, por isso, têm aplicação no controlo de infecções por agentes humanos (Doughari, 2012). No alecrim, estes são maioritariamente representados por flavonóides, como a apigenina, diosmina, luteolina e *genkwanina*, e por ácidos fenólicos (>3%), nomeadamente ácidos rosmarínico, clorogénico e cafeico (Al-Sereiti et al., 1999; Samuelsson & Bohlin, 2010; Wagstaff et al., 1998; WHO, 2009).

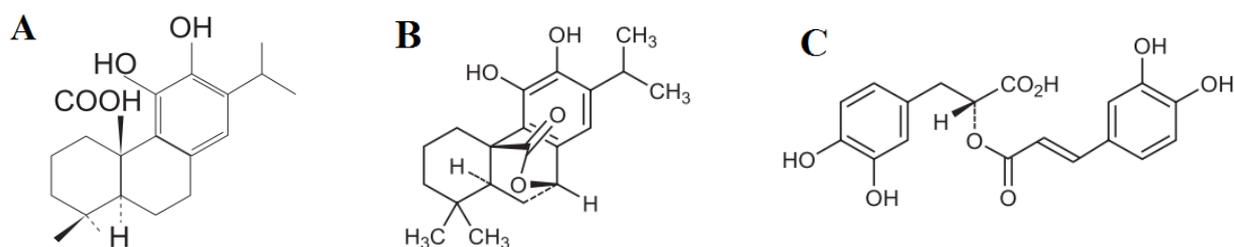


Figura 4 - Estrutura química de três compostos importantes presentes na *R. officinalis*; (Begum et al., 2013; WHO, 2009)

(A-Ácido carnósico; B-Carnosol; C-Ácido rosmarínico)

Os terpenos são hidrocarbonetos insaturados, geralmente presentes nos óleos essenciais e resinas, que englobam mais de 10 000 compostos e dividem-se em mono-, di-, tri- e sesquiterpenos, consoante o número de átomos de carbono e grupos isopreno (C_5H_8) (Doughari, 2012; Lovkova et al., 2001). Fazem parte dos principais compostos do alecrim, o rosmanol, epirosmanol, carnosol e ácido carnósico (diterpenos tricíclicos; ver estrutura na Figura 4), e o ácido ursólico e oleanólico (triterpenos) (Begum et al., 2013; Samuelsson & Bohlin, 2010; Ulbricht et al., 2010; WHO, 2009).

No entanto o ácido carnósico, que por oxidação é convertido a carnosol, tem propriedades físico-químicas termo e foto-instáveis, que no entanto podem ser contornadas por uma extracção por fluido supercrítico (operação a baixa temperatura) (Posadas et al., 2009).

Recentemente foram identificados 5 novos compostos num extracto etanólico de *R. officinalis*, o oficinoterpenosido A₁ e A₂ (glicosídeos diterpenóides), oficinoterpenosido B e C (glicosídeos triterpenóides) e oficinoterpenosido D (*normonoterpenóide*) (Zhang et al., 2014).

Os óleos essenciais são misturas complexas que podem conter centenas de compostos, desde substâncias voláteis, monoterpenos, sesquiterpenos, compostos aromáticos e derivados (Lovkova et al., 2001). O óleo essencial das folhas de *Rosmarinus officinalis* L. (até 2.5%), obtido por destilação a vapor, é incolor a amarelo claro, com cheiro canforado característico e insolúvel em água (Al-Sereiti et al., 1999; Begum et al., 2013; Comissão Permanente da Farmacopeia Portuguesa, 2002). Os seus principais constituintes são a cânfora (5-21%), 1,8-cineol (15-55%), α -pineno (9-26%), borneol (1.5-5.0%), cânfeno (2.5-12.0%), β -pineno (2.0-9.0%) e limoneno (1.5- 5.0%), em proporções que variam consoante o estágio vegetativo e condições bioclimáticas (Begum et al., 2013; WHO, 2009).

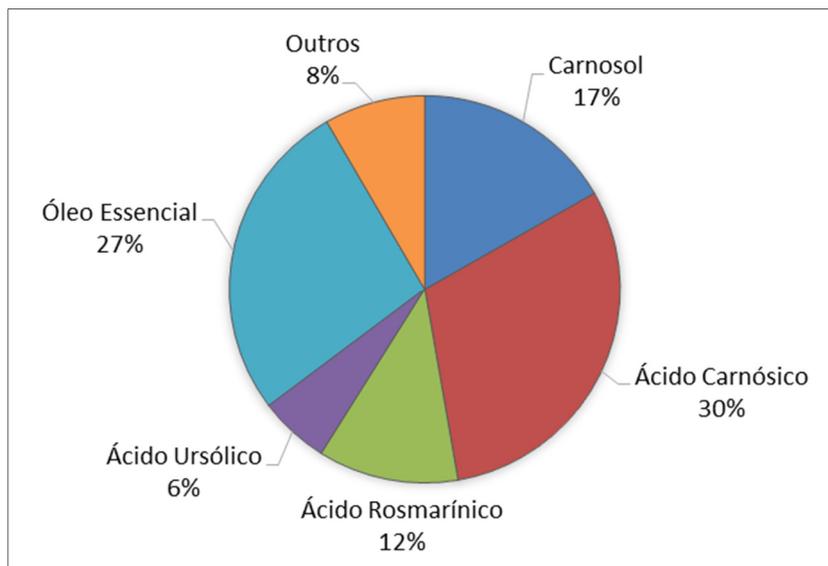


Figura 5 - Percentagem de estudos de actividade biológica associados a cada composto; (estudos sobre o ácido carnósico incluem os compostos ácido 12-*O*-metilcarnósico e ácido 12-metoxi-cis/trans-carnósico; estudos sobre o óleo essencial incluem os compostos 1,8-cineol, α -pineno e β -pineno);

Após a revisão de artigos e análise dos dados bibliográficos pode-se observar quais os compostos de *R. officinalis* mais estudados. Pelo gráfico da Figura 5, verifica-se que o ácido carnósico, com cerca de 30% dos estudos, é o composto bioactivo mais investigado, juntamente com o óleo essencial. Ainda assim, o carnosol, o ácido rosmarínico, e o ácido ursólico compreenderam 35% dos estudos de investigação.

Compostos como o ácido betulínico, oleanólico e micromérico, o rosmanol, epirosmanol e luteolina, entre outros, não representaram ser o grande alvo dos estudos, correspondendo apenas a 23 de 275 de estudos com compostos. No entanto, tem havido um crescente interesse nestes compostos desde 2010 (Tabela 3).

Existe claramente, aos olhos da comunidade científica, um grande potencial farmacológico na *R. officinalis*, principalmente no ácido carnósico e no óleo essencial, traduzido pelo aumento do número de estudos nos últimos 5 anos, com 53 e 46 estudos, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3 - Evolução dos estudos com compostos ao longo dos anos; (AC-Ácido carnósico); AR-Ácido rosmarínico; AU-Ácido ursólico; OE-Óleo essencial;)

	Carnosol	AC	AR	AU	OE	Outros	Total
1990	0	0	0	0	0	0	0
1991	0	0	0	0	1	0	1
1992	1	2	0	0	0	0	3
1993	0	0	0	0	2	0	2
1994	2	0	0	2	0	0	4
1995	2	1	0	0	0	0	3
1996	2	0	0	0	0	0	2
1997	0	0	0	0	0	0	0
1998	0	0	0	0	0	0	0
1999	0	0	0	0	4	0	4
2000	0	0	0	0	1	0	1
2001	2	2	0	0	1	2	7
2002	2	4	2	3	0	0	11
2003	2	3	1	0	1	1	8
2004	1	3	0	0	2	1	7
2005	2	0	0	0	0	0	2
2006	3	5	2	0	3	0	13
2007	1	4	0	1	8	2	16
2008	1	5	1	0	4	0	11
2009	0	2	2	1	1	1	7
2010	7	10	5	2	12	3	39
2011	3	9	2	2	11	2	29
2012	5	10	5	3	8	4	35
2013	8	10	11	1	5	7	42
2014	2	14	1	1	10	0	28

Actividades Biológicas

O alecrim tem sido utilizado na culinária, principalmente para modificar e melhorar os sabores, mas também na medicina tradicional, sendo uma erva medicinal muito valorizada (Zhang et al., 2014). É hoje em dia uma das mais apreciadas fontes de compostos bioactivos naturais, e de facto, esta planta exerce várias actividades farmacológicas, como antibacteriana, antidiabética, anti-inflamatória, anti-tumoral, antioxidante, entre outras (Zhang et al., 2014).

As actividades biológicas da *R. officinalis* L. têm sido atribuídas a dois grupos de compostos: a fracção volátil e os compostos fenólicos (Romo Vaquero et al., 2012). Este último grupo contém fundamentalmente uma fracção de flavonóides, ácido rosmarínico, e alguns compostos diterpénicos estruturalmente derivados do ácido carnósico, como o carnosol e o rosmanol (Romo Vaquero et al., 2012).

Resultante da revisão de artigos, verifica-se que nos últimos 14 anos o alecrim tem sido mais estudado tendo em conta as suas propriedades anticancerígenas, antioxidantes e anti-infecciosas, englobando 55% dos estudos. As actividades relacionadas com o sistema nervoso central (antidepressiva, neuroprotectora, colinérgica, etc) e anti-inflamatória e analgésica contaram com quase 25% de estudos (Figura 6).

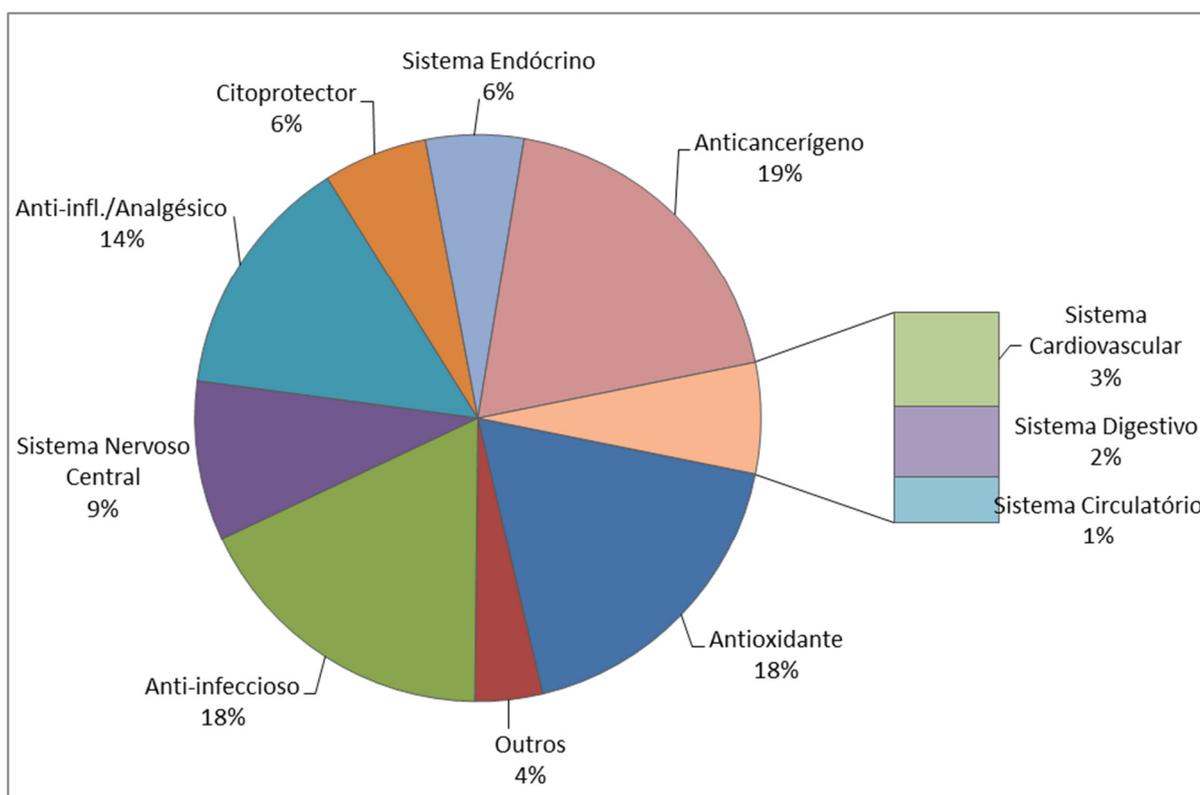


Figura 6 - Relação do nº de estudos (em %) com as actividades biológicas estudadas de *R. officinalis*;

Actividade Anti-inflamatória e Analgésica

As plantas são uma boa fonte de agentes anti-inflamatórios, e a pesquisa contínua de novos compostos, especialmente a partir de plantas com efeitos farmacológicos historicamente documentados, constitui um grande potencial farmacêutico (Benincá, Dalmarco, Pizzolatti, & Fröde, 2011). Controlar a libertação de mediadores no processo inflamatório é o objetivo principal dos fármacos anti-inflamatórios (da Rosa et al., 2013).

A resposta inflamatória e os danos oxidativos são dois principais fatores indutores de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas, no entanto os polifenóis de algumas plantas são capazes de reduzir estes problemas (Peng et al., 2007).

O óleo essencial do alecrim tem sido utilizado topicamente para as dores musculares e reumáticas (Takaki et al., 2008).

Verifica-se que a actividade anti-inflamatória e analgésica foi das mais estudadas havendo uma tentativa de justificar estas propriedades a vários compostos de *R. officinalis*, sendo o carnosol o mais investigado (Figura 7).

Os estudos anti-inflamatórios e analgésicos foram baseados na avaliação da dor e analgesia em ratos, e expressão de citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α , etc), das COX-1 e 2 e óxido nítrico em células de macrófagos (ver apêndice I, II e III).

Actividade Antioxidante

Os antioxidantes naturais das plantas estão a tornar-se cada vez mais importantes, não só na área da alimentação (preservação e estabilidade de alimentos) mas também na medicina preventiva (K.-G. Lee & Shibamoto, 2002). Os antioxidantes constituem uma das importantes fontes para curar e prevenir doenças associadas a danos oxidativos, como o cancro, problemas cardiovasculares e doenças neurodegenerativas (Aherne, Kerry, & O'Brien, 2007; Leal et al., 2003; K.-G. Lee & Shibamoto, 2002).

As espécies reactivas de oxigénio, incluindo o peróxido de hidrogénio e radicais livres, como anião superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$) e o radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), são inevitavelmente produzidas nos organismos vivos resultantes de processos metabólicos ou provenientes de fontes externas (Botsoglou et al., 2010).

A exposição prolongada dos sistemas biológicos aos radicais livres pode provocar danos funcionais, estruturais, envelhecimento, e morte celular (M. E. Gutiérrez et al., 2003).

A família Lamiaceae tem sido muito focada na pesquisa de compostos antioxidantes devidos à sua riqueza em polifenóis (Botsoglou et al., 2010).

Pelos métodos DPPH, Rancimat (Determinação da Estabilidade Oxidativa da Gordura) e TBARS (Teste com espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico), vários estudos comprovaram a actividade antioxidante do óleo essencial, dos ácidos carnósico e rosmarínico, e do carnosol. Estas propriedades estão muito relacionadas com outras actividades biológicas, anticancerígena e citoprotectora fundamentalmente, devido às suas capacidades de neutralizar espécies reactivas de oxigénio (Figura 7 e apêndice I, II e III).

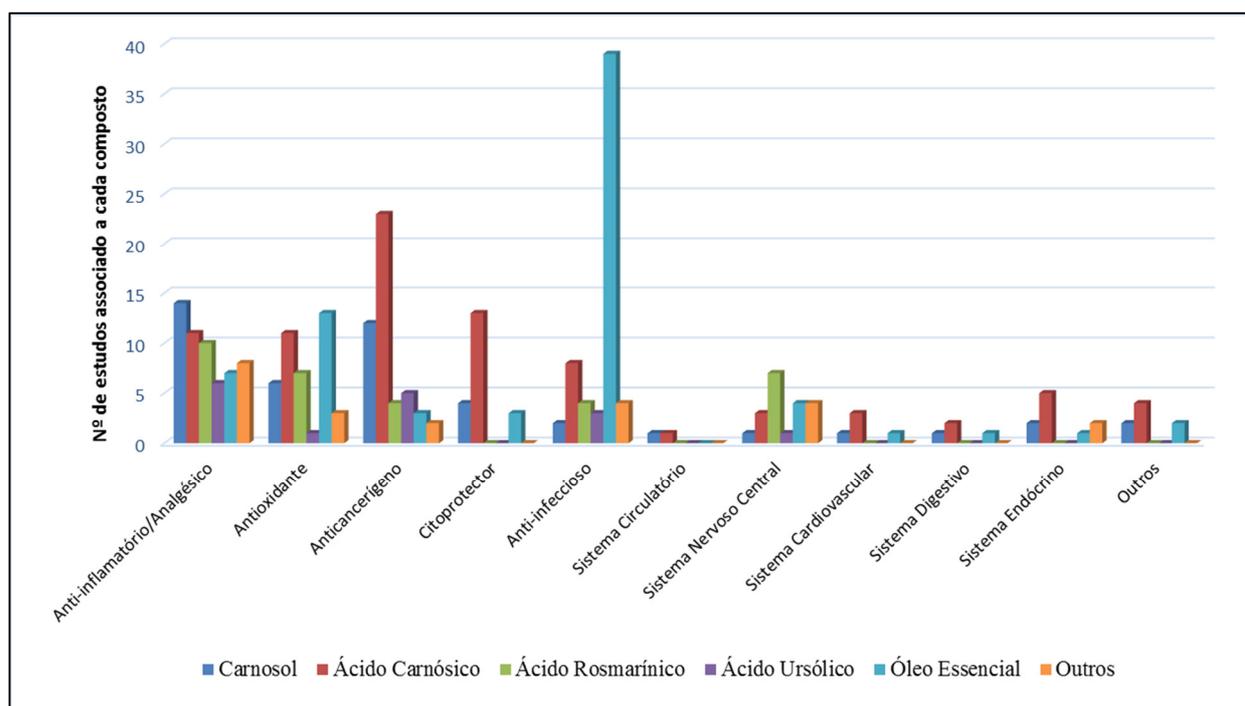


Figura 7 – Relação das actividades biológicas com os respectivos compostos de *R. officinalis*; (estudos sobre o ácido carnósico incluem os compostos ácido 12-O-metilcarnósico e ácido 12-metoxi-cis/trans-carnósico; estudos sobre o óleo essencial incluem os compostos 1,8-cineol, α -pineno e β -pineno).

Actividade Anti-tumoral

Não há dúvidas de que a composição da dieta humana influencia o risco de cancro, podendo os seus componentes exercer influências positivas ou negativas (Visanji, Thompson, & Padfield, 2006).

A quimioprevenção é o controlo farmacológico a longo prazo do risco de cancro, e várias plantas, juntamente com os seus compostos, têm sido investigadas quanto ao seu potencial anti-tumoral (Sancheti & Goyal, 2006a; Visanji et al., 2006). Cerca de 70% dos medicamentos utilizados no tratamento do cancro têm raízes em produtos de origem natural (Prasad, Yadav, Kannappan, & Aggarwal, 2011).

No entanto, os acentuados efeitos secundários dos métodos terapêuticos impedem em grande parte a sua eficácia, aumentando a procura por novas abordagens para a prevenção e tratamento do cancro (Xiang, Ma, Dong, & Shen, 2014).

Os polifenóis são compostos capazes de modular o crescimento e diferenciação celular e assim interferir com o desenvolvimento e progressão de tumores (Kar, Palit, Ball, & Das, 2012). Sendo o alecrim uma planta rica em compostos fenólicos, muitos estudos foram direccionados para a actividade anti-tumoral (cerca de 20%) (figura 6).

O ácido carnósico e o carnosol são diterpenos que constituem cerca de 5% do peso das folhas secas de *R. officinalis* e foram os compostos com maior relevância anti-tumoral (35 em 49 estudos com compostos). Verifica-se um grande aumento do número de estudos do ácido carnósico bem como da actividade anti-tumoral nos últimos 5 anos (Tabelas 3 e 4). Os cancros da mama, melanoma, cólon, carcinoma hepático e leucemia foram os mais estudados (apêndice I, II e III).

Tabela 4 - Evolução do número de estudos de actividade biológica de *R. officinalis* ao longo dos anos; (A/A-Anti-inflamatório/Analgésico; AntiO-Antioxidante; AntiCanc-Anticancerígeno; Citop-Citoprotector; Infeccioso-Anti-infeccioso; Circulat-Sistema circulatório; SNC-Sistema nervoso central; Cardio-Sistema cardiovascular; Digestivo-Sistema digestivo; Endócr- Sistema endócrino;

	A/A	AntiO	AntiCanc	Citop	Infeccioso	Circulat	SNC	Cardiov	Digestivo	Endócr	Outros
1990	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1991	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
1992	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1993	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
1994	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1995	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1996	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
1997	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
1998	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
1999	0	1	1	1	2	0	0	0	0	0	1
2000	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
2001	0	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0
2002	1	3	0	3	1	0	0	0	0	0	0
2003	0	4	0	0	1	0	1	0	0	0	1
2004	0	1	0	0	3	0	0	0	0	0	0
2005	0	0	2	1	1	1	0	1	0	1	0
2006	1	2	4	0	5	1	1	0	0	1	0
2007	4	4	2	1	11	1	0	0	0	0	0
2008	5	6	2	0	1	1	1	0	0	1	0
2009	2	2	1	0	1	0	1	0	0	0	0
2010	2	7	4	1	6	0	6	0	1	0	1
2011	6	3	6	3	5	0	1	1	1	2	0
2012	4	5	9	0	2	0	5	1	1	0	2
2013	8	4	4	4	5	0	6	2	1	4	5
2014	5	6	12	3	3	0	4	2	0	6	0

Actividade Anti-infecciosa

A maioria das plantas produzem metabolitos secundários antimicrobianos, seja a partir do seu curso normal de crescimento e desenvolvimento, ou em resposta ao ataque de patógenos ou stress.. A utilização de óleos essenciais constitui uma nova maneira de reduzir a proliferação de microorganismos (Kačániová et al., 2014).

O aumento do uso de antibióticos na medicina, na agricultura e em animais tem contribuído largamente para o aumento do número de microorganismos multi-resistentes (Qabaha, 2013). Sendo uma preocupação mundial de saúde pública, os investigadores têm-se

empenhado cada vez mais na procura de novos antimicrobianos eficazes (Petrolini et al., 2013; Qabaha, 2013).

Além das propriedades antibacterianas, os óleos essenciais têm também actividade insecticida, antiparasitária, e antifúngica, que são importantes para o controlo de doenças humanas de origem microbiana (Luqman, Dwivedi, Darokar, Kalra, & Khanuja, 2007).

Desde os anos 90 até 2014, o óleo essencial do alecrim foram os compostos com melhor evidência antimicrobiana, contando com 65% de todos os estudos de actividade anti-infecciosa (Figura 7). A actividade antimicrobiana do óleo essencial foi superior em comparação com os compostos isolados 1,8-cineol e α -pineno (Jiang et al., 2011). O possível efeito sinérgico entre os seus compostos parece ter uma forte actividade contra bactérias Gram-positivas e fungos (Bozin, Mimica-Dukic, Samojlik, & Jovin, 2007; Luqman et al., 2007).

Verificou-se também que o ácido carnósico demonstrou actividade antiviral contra o vírus sincicial respiratório humano (H.-B. Shin et al., 2013).

Actividades ao nível do Sistema Nervoso Central e Sistema Endócrino

A diabetes mellitus é um dos problemas metabólicos mais prevalentes em todo o mundo. A insulina e os agentes hipoglicémicos orais são utilizados para tratar a diabetes, no entanto estes fármacos não curam a doença e têm efeitos adversos notáveis (Rahimifard et al., 2014).

Tem havido uma tendência crescente de estudos sobre novos fármacos neuroprotectores a partir de fontes naturais, o que levanta novas esperanças terapêuticas (Ozarowski et al., 2013).

A diabetes e as doenças ao nível do SNC (depressão, Parkinson, Alzheimer, etc) são doenças crónicas incuráveis, e talvez por isso se tenha verificado um aumento do número de estudos nos últimos anos, numa tentativa de procurar soluções com *R. officinalis* (Tabela 4).

O ácido carnósico, juntamente com o carnosol, demonstraram ser os compostos mais relevantes no controlo da glicémia. Já o ácido rosmarínico parece ter potencial contra doenças neurodegenerativas (Figura 7).

Verificou-se que este último composto teve efeitos colinérgicos e neuroprotectores, e inibiu a acetilcolinesterase (El Omri, Han, Ben Abdrabbah, & Isoda, 2012; Ozarowski et al., 2013).

Conclusão

Nos últimos anos, tem sido dedicado muito esforço ao desenvolvimento de medicamentos à base de plantas (Peng et al., 2007).

A área da fitoterapia está a permitir a descoberta de novos MBPs seguros e eficazes, bem como, de novos fármacos, constatando-se que, o que a química farmacêutica tem procurado desesperadamente, a Mãe Natureza tem em grandes quantidades (Mohamed et al., 2012).

Com o desenvolvimento de vários métodos analíticos de alta precisão, e com os avanços na biologia molecular e genética, é agora possível isolar compostos em quantidades extremamente pequenas, estudar a sua estrutura química e potencialidades terapêuticas, e assim, poder alterar a molécula para a produção de novos e mais selectivos agentes terapêuticos (Al-Sereiti et al., 1999).

Pela primeira vez, com este trabalho de revisão, é feita uma análise estatística descritiva dos artigos de *Rosmarinus officinalis* L., permitindo enfatizar o estado actual dos estudos e investigações feitas até à data. Este trabalho permite ter noção de quais as actividades farmacológicas e os compostos mais relevantes desta planta para a comunidade científica.

Desde a década de 90 que muitos estudos *in vivo* e *in vitro* têm investigado os efeitos de *R. officinalis* a fim de demonstrar as importantes actividades biológicas dos seus compostos. Verifica-se visivelmente um crescente interesse terapêutico nesta planta.

Com esta pesquisa exaustiva foram comprovadas as várias propriedades medicinais do alecrim (antioxidante, anti-inflamatória, analgésica, etc) previamente descritas em estudos etnobotânicos.

Possivelmente devido aos avanços tecnológicos dos métodos de extracção, isolamento e identificação, tem-se verificado um aumento dos estudos com compostos isolados.

Conclui-se que os compostos farmacologicamente mais importantes de *R. officinalis* L., e os que têm sido o maior alvo de estudos científicos são o ácido carnósico, o óleo essencial, o carnosol e o ácido rosmarínico.

O ácido carnósico e o óleo essencial do alecrim, pela sistemática evidência de estudos, demonstram ser alternativas prometedoras como anti-tumorais e anti-infecciosos, respectivamente.

Com esta revisão pode constatar-se que esta planta possui um futuro promissor na área medicinal, principalmente no tratamento e prevenção de vários tipos de cancro, de doenças

infecciosas e doenças cada vez mais emergentes, como o Parkinson, a depressão e a doença de Alzheimer.

Bibliografia

- A. Fahim, Amr Y. Esmat, Hoda M. Fad, F. (1999). Allied studies on the effect of *Rosmarinus officinalis* L. on experimental hepatotoxicity and mutagenesis. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 50, 413–427.
- Abe, F., Yamauchi, T., Nagao, T., Kinjo, J., Okabe, H., Higo, H., & Akahane, H. (2002). Ursolic acid as a trypanocidal constituent in rosemary. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 25, 1485–7.
- Abu-Al-Basal, M. a. (2010). Healing potential of *Rosmarinus officinalis* L. on full-thickness excision cutaneous wounds in alloxan-induced-diabetic BALB/c mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 131, 443–50.
- Abuzeid, N., Kalsum, S., Koshy, R. J., Larsson, M., Glader, M., Andersson, H., ... Lerm, M. (2014). Antimycobacterial activity of selected medicinal plants traditionally used in Sudan to treat infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 157, 134–9.
- Adersen, A., Gauguin, B., Gudiksen, L., & Jäger, A. K. (2006). Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 104, 418–22.
- Afonso, M. S., de O Silva, A. M., Carvalho, E. B., Rivelli, D. P., Barros, S. B., Rogero, M. M., ... Mancini-Filho, J. (2013). Phenolic compounds from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) attenuate oxidative stress and reduce blood cholesterol concentrations in diet-induced hypercholesterolemic rats. *Nutrition & Metabolism*, 10, 19.
- Aherne, S. A., Kerry, J. P., & O'Brien, N. M. (2007). Effects of plant extracts on antioxidant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. *The British Journal of Nutrition*, 97, 321–8.
- Ahmad, I., Aqil, F., Ahmad, F., & Owais, M. (2006). Herbal Medicines: Prospects and Constraints. In I. Ahmad, F. Aqil, & M. Owais (Eds.), *Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs* (pp. 59–77). John Wiley & Sons.
- Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Bakkali, M., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., ... Conchello, P. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 2643–51.
- Albani, C. M., Denegri, G. M., & Elissondo, M. C. (2014). Effect of Different Terpene-Containing Essential Oils on the Proliferation of *Echinococcus granulosus* Larval Cells. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2014, 746931.
- Almela, L., Sánchez-Muñoz, B., Fernández-López, J. a, Roca, M. J., & Rabe, V. (2006). Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography A*, 1120, 221–9.

- Al-Sereiti, M. R., Abu-Amer, K. M., & Sen, P. (1999). Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian Journal of Experimental Biology*, *37*, 124–30.
- Altinier, G., Sosa, S., Aquino, R. P., Mencherini, T., Della Loggia, R., & Tubaro, A. (2007). Characterization of topical antiinflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*, 1718–23.
- Amaral, G. P., de Carvalho, N. R., Barcelos, R. P., Dobrachinski, F., Portella, R. D. L., da Silva, M. H., ... Fachineto, R. (2013). Protective action of ethanolic extract of *Rosmarinus officinalis* L. in gastric ulcer prevention induced by ethanol in rats. *Food and Chemical Toxicology*, *55*, 48–55.
- Amin, A., & Hamza, A. A. (2005). Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sciences*, *77*, 266–78.
- Aqel, M. B. (1991). Relaxant effect of the volatile oil of *Rosmarinus officinalis* on tracheal smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology*, *33*, 57–62.
- Aruoma, O. I., Halliwell, B., Aeschbach, R., & Löliger, J. (1992). Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica*, *22*, 257–68.
- Aruoma, O., Spencer, J., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., ... Halliwell, B. (1996). An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provençal herbs. *Food and Chemical Toxicology*, *34*, 449–456.
- Asai, A., Nakagawa, K., & Miyazawa, T. (1999). Antioxidative effects of turmeric, rosemary and capsicum extracts on membrane phospholipid peroxidation and liver lipid metabolism in mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *63*, 2118–22.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, *117*, 426–436.
- Bai, N., He, K., Roller, M., Lai, C.-S., Shao, X., Pan, M.-H., & Ho, C.-T. (2010). Flavonoids and phenolic compounds from *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*, 5363–7.
- Bakirel, T., Bakirel, U., Keleş, O. U., Ulgen, S. G., & Yardibi, H. (2008). In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*, *116*, 64–73.
- Balunas, M. J., & Kinghorn, A. D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, *78*, 431–41.
- Bandaranayake, W. M. (2006). Quality Control, Screening, Toxicity, and Regulation of Herbal Drugs. In I. Ahmad, F. Aqil, & M. Owais (Eds.), *Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs* (pp. 25–57). John Wiley & Sons.
-

-
- Barnes, J., Anderson, L. A., & Phillipson, J. D. (2007). *Herbal Medicines* (3rd ed., p. 710). London: Pharmaceutical Press.
- Barni, M. V, Carlini, M. J., Cafferata, E. G., Puricelli, L., & Moreno, S. (2012). Carnosic acid inhibits the proliferation and migration capacity of human colorectal cancer cells. *Oncology Reports*, 27, 1041–8.
- Batanouny, K. H., Aboutabl, E., Shabana, M., C., & Soliman, F. (1999). *Wild medicinal plants in Egypt: an inventory to support conservation and sustainable use*. (K. . H. . Batanouny, Ed.) *Wild Medicinal Plants in Egypt: An Inventory to Support Conservation and Sustainable Use* (p. 255). Cairo, Egypt: Academy of Scientific Research & Technology.
- Begum, A., Sandhya, S., Shaffath Ali, S., Vinod, K. R., Reddy, S., & Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria*, 12, 61–73.
- Benincá, J. P., Dalmarco, J. B., Pizzolatti, M. G., & Fröde, T. S. (2011). Analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L. in mice. *Food Chemistry*, 124, 468–475.
- Beretta, G., Artali, R., Facino, R. M., & Gelmini, F. (2011). An analytical and theoretical approach for the profiling of the antioxidant activity of essential oils: the case of *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55, 1255–64.
- Bernardes, W. a, Lucarini, R., Tozatti, M. G., Souza, M. G. M., Silva, M. L. A., Filho, A. a D. S., ... Cunha, W. R. (2010). Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. *Chemistry & Biodiversity*, 7, 1835–40.
- Berrington, D., & Lall, N. (2012). Anticancer Activity of Certain Herbs and Spices on the Cervical Epithelial Carcinoma (HeLa) Cell Line. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012, 564927.
- Botsoglou, N., Taitzoglou, I., Zervos, I., Botsoglou, E., Tsantarliotou, M., & Chatzopoulou, P. S. (2010). Potential of long-term dietary administration of rosemary in improving the antioxidant status of rat tissues following carbon tetrachloride intoxication. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 944–50.
- Bower, A. M., Real Hernandez, L. M., Berhow, M. A., & de Mejia, E. G. (2014). Bioactive compounds from culinary herbs inhibit a molecular target for type 2 diabetes management, dipeptidyl peptidase IV. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 6147–58.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7879–85.
-

- Calixto, J. B. (2005). Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. *Journal of Ethnopharmacology*, *100*, 131–4.
- Cazzola, R., Camerotto, C., & Cestaro, B. (2011). Anti-oxidant, anti-glycant, and inhibitory activity against α -amylase and α -glucosidase of selected spices and culinary herbs. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *62*, 175–84.
- Chae, I. G., Yu, M. H., Im, N.-K., Jung, Y. T., Lee, J., Chun, K.-S., & Lee, I.-S. (2012). Effect of *Rosmarinus officinalis* L. on MMP-9, MCP-1 levels, and cell migration in RAW 264.7 and smooth muscle cells. *Journal of Medicinal Food*, *15*, 879–86.
- Chan, M. M.-Y., Ho, C.-T., & Huang, H.-I. (1995). Effects of three dietary phytochemicals from tea, rosemary and turmeric on inflammation-induced nitrite production. *Cancer Letters*, *96*, 23–29.
- Chang, C.-H., Chyau, C.-C., Hsieh, C.-L., Wu, Y.-Y., Ker, Y.-B., Tsen, H.-Y., & Peng, R. Y. (2008). Relevance of phenolic diterpene constituents to antioxidant activity of supercritical CO₂ extract from the leaves of rosemary. *Natural Product Research*, *22*, 76–90.
- Changizi Ashtiyani, S., Zohrabi, M., Hassanpoor, A., Hosseini, N., & Hajhashemi, S. (2013). Oral administration of the aqueous extract of *Rosmarinus officinalis* in rats before renal reperfusion injury. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, *7*, 367–75.
- Checker, R., Sandur, S. K., Sharma, D., Patwardhan, R. S., Jayakumar, S., Kohli, V., ... Sainis, K. B. (2012). Potent anti-inflammatory activity of ursolic acid, a triterpenoid antioxidant, is mediated through suppression of NF- κ B, AP-1 and NF-AT. *PloS One*, *7*, e31318.
- Chen, C., Chen, H., Hsieh, C., Yang, Y., & Wung, B. (2011). Upregulation of NF-E2-related factor-2-dependent glutathione by carnosol provokes a cytoprotective response and enhances cell survival. *Acta Pharmacologica Sinica*, *32*, 62–9.
- Chen, J.-H., Ou, H.-P., Lin, C.-Y., Lin, F.-J., Wu, C.-R., Chang, S.-W., & Tsai, C.-W. (2012). Carnosic acid prevents 6-hydroxydopamine-induced cell death in SH-SY5Y cells via mediation of glutathione synthesis. *Chemical Research in Toxicology*, *25*, 1893–901.
- Cheng, A.-C., Lee, M.-F., Tsai, M.-L., Lai, C.-S., Lee, J. H., Ho, C.-T., & Pan, M.-H. (2011). Rosmanol potently induces apoptosis through both the mitochondrial apoptotic pathway and death receptor pathway in human colon adenocarcinoma COLO 205 cells. *Food and Chemical Toxicology*, *49*, 485–93.
- Cheung, S., & Tai, J. (2007). Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. *Oncology Reports*, *17*, 1525–31.
- Chohan, M., Naughton, D. P., Jones, L., & Opara, E. I. (2012). An investigation of the relationship between the anti-inflammatory activity, polyphenolic content, and antioxidant activities of cooked and in vitro digested culinary herbs. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2012*, 627843.
-

- Ciolino, H. ., Clarke, R., Yeh, G. ., & Plouzek, C. . (1999). Inhibition of P-glycoprotein activity and reversal of multidrug resistance in vitro by rosemary extract. *European Journal of Cancer*, *35*, 1541–1545.
- Comissão Permanente da Farmacopeia Portuguesa. (2002). *Farmacopeia Portuguesa*. (Infarmed, Ed.) (7th ed.). Lisbon: Ministério da Saúde.
- Cordell, G. A., & Colvard, M. D. (2005). Some thoughts on the future of ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, *100*, 5–14.
- Corrêa Dias, P., Foglio, M. A., Possenti, A., & de Carvalho, J. E. (2000). Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Ethnopharmacology*, *69*, 57–62.
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2002). Drugs from nature: past achievements, future prospects. In M. . Iwu & J. Wootton (Eds.), *Ethnomedicine and Drug Discovery* (pp. 23–37). Elsevier.
- Da Rosa, J. S., Facchin, B. M., Bastos, J., Siqueira, M. A., Micke, G. A., Dalmarco, E. M., ... Fröde, T. S. (2013). Systemic administration of *Rosmarinus officinalis* attenuates the inflammatory response induced by carrageenan in the mouse model of pleurisy. *Planta Medica*, *79*, 1605–14.
- Daferera, D. J., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. (2000). GC-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plants and Their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*, 2576–2581.
- Del Baño, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., del Río, J. A., Ortuño, A., ... Gerard, D. (2003). Phenolic diterpenes, flavones, and rosmarinic acid distribution during the development of leaves, flowers, stems, and roots of *Rosmarinus officinalis*. Antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*, 4247–53.
- Dilas, S., Knez, Ž., Četojević-Simin, D., Tumbas, V., Škerget, M., Čanadanović-Brunet, J., & Četković, G. (2012). In vitro antioxidant and antiproliferative activity of three rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract formulations. *International Journal of Food Science & Technology*, *47*, 2052–2062.
- Dörrie, J., Sapala, K., & Zunino, S. J. (2001). Carnosol-induced apoptosis and downregulation of Bcl-2 in B-lineage leukemia cells. *Cancer Letters*, *170*, 33–9.
- Doudican, N. a, Mazumder, A., Kapoor, S., Sultana, Z., Kumar, A., Talawdekar, A., ... Vali, S. (2014). Predictive simulation approach for designing cancer therapeutic regimens with novel biological mechanisms. *Journal of Cancer*, *5*, 406–16.
- Doughari, J. H. (2012). Phytochemicals : Extraction Methods , Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents. In Dr Venketeshwer Rao (Ed.), *Phytochemicals - A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health* (pp. 1–32). InTech.
-

- Einbond, L. S., Wu, H.-A., Kashiwazaki, R., He, K., Roller, M., Su, T., ... Goldsberry, S. (2012). Carnosic acid inhibits the growth of ER-negative human breast cancer cells and synergizes with curcumin. *Fitoterapia*, *83*, 1160–8.
- El Omri, A., Han, J., Ben Abdrabbah, M., & Isoda, H. (2012). Down regulation effect of *Rosmarinus officinalis* polyphenols on cellular stress proteins in rat pheochromocytoma PC12 cells. *Cytotechnology*, *64*, 231–40.
- El Omri, A., Han, J., Kawada, K., Ben Abdrabbah, M., & Isoda, H. (2012). Luteolin enhances cholinergic activities in PC12 cells through ERK1/2 and PI3K/Akt pathways. *Brain Research*, *1437*, 16–25.
- El Omri, A., Han, J., Yamada, P., Kawada, K., Ben Abdrabbah, M., & Isoda, H. (2010). *Rosmarinus officinalis* polyphenols activate cholinergic activities in PC12 cells through phosphorylation of ERK1/2. *Journal of Ethnopharmacology*, *131*, 451–8.
- Elansary, H. O., & Mahmoud, E. a. (2014). Egyptian herbal tea infusions' antioxidants and their antiproliferative and cytotoxic activities against cancer cells. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 1–6.
- Elgayyar, M., Draughon, F. A., Golden, D. A., & Mount, J. R. (2001). Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection*, *64*, 1019–24.
- Emami, F., Ali-Beig, H., Farahbakhsh, S., Mojabi, N., Rastegar-Moghadam, B., Arbabian, S., ... Sahraei, H. (2013). Hydroalcoholic extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its constituent carnosol inhibit formalin-induced pain and inflammation in mice. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *16*, 309–16.
- ESCOP. (2003). *ESCOP Monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products* (2nd ed., p. 568). Thieme.
- Evans, W. C. (2009). *Trease and Evans' Pharmacognosy* (16th ed., p. 616). Elsevier Health Sciences.
- Fabricant, D. S., & Farnsworth, N. R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*, *109 Suppl*, 69–75.
- Faixová, Z., & Faix, S. (2008). Biological Effects of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Essential Oil (A Review). *Folia Veterinaria*, *52*, 135–139.
- Fernández, L. F., Palomino, O. M., & Frutos, G. (2014). Effectiveness of *Rosmarinus officinalis* essential oil as antihypotensive agent in primary hypotensive patients and its influence on health-related quality of life. *Journal of Ethnopharmacology*, *151*, 509–16.
- Fu, Y., Zu, Y., Chen, L., Efferth, T., Liang, H., Liu, Z., & Liu, W. (2007). Investigation of antibacterial activity of rosemary essential oil against *Propionibacterium acnes* with atomic force microscopy. *Planta Medica*, *73*, 1275–80.
-

- Fu, Y., Zu, Y., Chen, L., Shi, X., Wang, Z., Sun, S., & Efferth, T. (2007). Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytotherapy Research*, *21*, 989–94.
- Gao, Q., Liu, H., Yao, Y., Geng, L., Zhang, X., Jiang, L., ... Yang, F. (2014). Carnosic acid induces autophagic cell death through inhibition of the Akt/mTOR pathway in human hepatoma cells. *Journal of Applied Toxicology*. doi:10.1002/jat.3049
- Gaya, M., Repetto, V., Toneatto, J., Anesini, C., Piwien-Pilipuk, G., & Moreno, S. (2013). Antiadipogenic effect of carnosic acid, a natural compound present in *Rosmarinus officinalis*, is exerted through the C/EBPs and PPAR γ pathways at the onset of the differentiation program. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1830*, 3796–806.
- Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., Mikail, C., Abou, L., & Portugal, H. (2004). Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytotherapy Research*, *18*, 990–5.
- Goldman, P. (2001). Herbal Medicines Today and the Roots of Modern Pharmacology. *Annals of Internal Medicine*, *135*, 594.
- González-Trujano, M. E., Peña, E. I., Martínez, a L., Moreno, J., Guevara-Fefer, P., Déciga-Campos, M., & López-Muñoz, F. J. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*, *111*, 476–82.
- González-Vallinas, M., Molina, S., Vicente, G., de la Cueva, A., Vargas, T., Santoyo, S., ... Ramírez de Molina, A. (2013). Antitumor effect of 5-fluorouracil is enhanced by rosemary extract in both drug sensitive and resistant colon cancer cells. *Pharmacological Research*, *72*, 61–8.
- González-Vallinas, M., Molina, S., Vicente, G., Sánchez-Martínez, R., Vargas, T., García-Risco, M. R., ... Ramírez de Molina, A. (2014). Modulation of estrogen and epidermal growth factor receptors by rosemary extract in breast cancer cells. *Electrophoresis*, *35*, 1719–27.
- González-Vallinas, M., Molina, S., Vicente, G., Zarza, V., Martín-Hernández, R., García-Risco, M. R., ... Ramírez de Molina, A. (2014). Expression of microRNA-15b and the glycosyltransferase GCNT3 correlates with antitumor efficacy of Rosemary diterpenes in colon and pancreatic cancer. *PloS One*, *9*, e98556.
- Gupta, A., Naraniwal, M., & Kothari, V. (2012). Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International Journal of Applied and Natural Sciences*, *1*, 8–26.
- Gutiérrez, M. E., García, A. F., Africa de Madariaga, M., Sagrista, M. L., Casadó, F. J., & Mora, M. (2003). Interaction of tocopherols and phenolic compounds with membrane lipid components: Evaluation of their antioxidant activity in a liposomal model system. *Life Sciences*, *72*, 2337–2360.
-

- Gutiérrez, R., Alvarado, J. L., Presno, M., Pérez-Veyna, O., Serrano, C. J., & Yahuaca, P. (2010). Oxidative stress modulation by *Rosmarinus officinalis* in CCl₄-induced liver cirrhosis. *Phytotherapy Research*, *24*, 595–601.
- Haloui, M., Louedec, L., Michel, J.-B., & Lyoussi, B. (2000). Experimental diuretic effects of *Rosmarinus officinalis* and *Centaurium erythraea*. *Journal of Ethnopharmacology*, *71*, 465–472.
- Hamburger, M., & Hostettmann, K. (1991). Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. *Phytochemistry*, *30*, 3864–3874.
- Handa, S. S. (2008). *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*. (S. S. Handa, S. P. S. Khanuja, G. Longo, & D. D. Rakesh, Eds.) (p. 260). International Centre for Science and High Technology.
- Heidari-Vala, H., Ebrahimi Hariry, R., Sadeghi, M. R., Akhondi, M. M., Ghaffari Novin, M., & Heidari, M. (2013). Evaluation of an Aqueous-Ethanollic Extract from *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) for its Activity on the Hormonal and Cellular Function of Testes in Adult Male Rat. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, *12*, 445–51.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E. (2012). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy* (2nd ed., p. 336). Edinburgh: Elsevier Health Sciences.
- Herrero, M., Plaza, M., Cifuentes, A., & Ibáñez, E. (2010). Green processes for the extraction of bioactives from Rosemary: Chemical and functional characterization via ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and in-vitro assays. *Journal of Chromatography A*, *1217*, 2512–20.
- Höfling, J. F., Anibal, P. C., Obando-Pereda, G. A., Peixoto, I. A. T., Furletti, V. F., Foglio, M. A., & Gonçalves, R. B. (2010). Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Brazilian Journal of Biology*, *70*, 1065–8.
- Horvathova, E., Navarova, J., Galova, E., Sevcovicova, A., Chodakova, L., Snahnicanova, Z., ... Slamenova, D. (2014). Assessment of antioxidative, chelating, and DNA-protective effects of selected essential oil components (eugenol, carvacrol, thymol, borneol, eucalyptol) of plants and intact *Rosmarinus officinalis* oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*, 6632–9.
- Hosseinzadeh, H., & Nourbakhsh, M. (2003). Effect of *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts extract on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytotherapy Research*, *17*, 938–41.
- Huang, H.-C., Huang, C.-Y., Lin-Shiau, S.-Y., & Lin, J.-K. (2009). Ursolic acid inhibits IL-1beta or TNF-alpha-induced C6 glioma invasion through suppressing the association ZIP/p62 with PKC-zeta and downregulating the MMP-9 expression. *Molecular Carcinogenesis*, *48*, 517–31.
-

- Huang, M. T., Ho, C. T., Wang, Z. Y., Ferraro, T., Lou, Y. R., Stauber, K., ... Conney, a H. (1994). Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. *Cancer Research*, *54*, 701–8.
- Huang, S.-C., Ho, C.-T., Lin-Shiau, S.-Y., & Lin, J.-K. (2005). Carnosol inhibits the invasion of B16/F10 mouse melanoma cells by suppressing metalloproteinase-9 through down-regulating nuclear factor-kappa B and c-Jun. *Biochemical Pharmacology*, *69*, 221–32.
- Hussain, A. I., Anwar, F., Chatha, S. A. S., Jabbar, A., Mahboob, S., & Nigam, P. S. (2010). *Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1070–1078.
- Ibarra, A., Cases, J., Roller, M., Chiralt-Boix, A., Coussaert, A., & Ripoll, C. (2011). Carnosic acid-rich rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaf extract limits weight gain and improves cholesterol levels and glycaemia in mice on a high-fat diet. *The British Journal of Nutrition*, *106*, 1182–9.
- Inoue, K., Takano, H., Shiga, A., Fujita, Y., Makino, H., Yanagisawa, R., ... Yoshikawa, T. (2006). Effects of volatile constituents of rosemary extract on lung inflammation induced by diesel exhaust particles. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, *99*, 52–7.
- Ishida, Y., Yamasaki, M., Yukizaki, C., Nishiyama, K., Tsubouchi, H., Okayama, A., & Kataoka, H. (2014). Carnosol, rosemary ingredient, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via glutathione depletion: proteomic approach using fluorescent two-dimensional differential gel electrophoresis. *Human Cell*, *27*, 68–77.
- Iwu, M. M. (2002). Therapeutic agents from ethnomedicine. In M. . Iwu & J. Wootton (Eds.), *Ethnomedicine and Drug Discovery* (pp. 1–22). Elsevier.
- Jarrar, N., Abu-Hijleh, A., & Adwan, K. (2010). Antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. alone and in combination with cefuroxime against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *3*, 121–123.
- Jemia, M. Ben, Tundis, R., Pugliese, A., Menichini, F., Senatore, F., Bruno, M., ... Loizzo, M. R. (2014). Effect of bioclimatic area on the composition and bioactivity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*, 1–10.
- Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y.-J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C.-J., ... Liu, X.-L. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *32*, 63–8.
- Jordán, M. J., Lax, V., Rota, M. C., Lorán, S., & Sotomayor, J. a. (2012). Relevance of carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid concentrations in the in vitro antioxidant and antimicrobial activities of *Rosmarinus officinalis* (L.) methanolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*, 9603–8.
- Kačániová, M., Vukovič, N., Horská, E., Salamon, I., Bobková, A., Hleba, L., ... Bobko, M. (2014). Antibacterial activity against *Clostridium* genus and antiradical activity of the
-

essential oils from different origin. *Journal of Environmental Science and Health. Part. B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 49, 505–12.

- Kaliora, A. C., Kogiannou, D. a a, Kefalas, P., Papassideri, I. S., & Kalogeropoulos, N. (2014). Phenolic profiles and antioxidant and anticarcinogenic activities of Greek herbal infusions; balancing delight and chemoprevention? *Food Chemistry*, 142, 233–41.
- Kamboj, A. (2012). Analytical Evaluation of Herbal Drugs. In O. Vallisuta (Ed.), *Drug Discovery Research in Pharmacognosy* (pp. 23–60). InTech.
- Kar, S., Palit, S., Ball, W. B., & Das, P. K. (2012). Carnosic acid modulates Akt/IKK/NF-κB signaling by PP2A and induces intrinsic and extrinsic pathway mediated apoptosis in human prostate carcinoma PC-3 cells. *Apoptosis*, 17, 735–47.
- Katiyar, C., Gupta, A., Kanjilal, S., & Katiyar, S. (2012). Drug discovery from plant sources: An integrated approach. *Ayu*, 33, 10–9.
- Kayashima, T., & Matsubara, K. (2012). Antiangiogenic effect of carnosic acid and carnosol, neuroprotective compounds in rosemary leaves. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 76, 115–9.
- Kim, H. Y., & Kim, K. (2003). Protein glycation inhibitory and antioxidative activities of some plant extracts in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1586–91.
- Kim, S. Y., Park, E., Park, J. A., Choi, B.-S., Kim, S., Jeong, G., ... Chun, H. S. (2010). The plant phenolic diterpene carnosol suppresses sodium nitroprusside-induced toxicity in c6 glial cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 1543–50.
- Klancnik, A., Guzej, B., Kolar, M. H., Abramovic, H., & Mozina, S. S. (2009). In vitro antimicrobial and antioxidant activity of commercial rosemary extract formulations. *Journal of Food Protection*, 72, 1744–52.
- Kontogianni, V. G., Tomic, G., Nikolic, I., Nerantzaki, A. a, Sayyad, N., Stosic-Grujicic, S., ... Tzakos, A. G. (2013). Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food Chemistry*, 136, 120–9.
- Kosaka, K., Mimura, J., Itoh, K., Satoh, T., Shimojo, Y., Kitajima, C., ... Shirasawa, T. (2010). Role of Nrf2 and p62/ZIP in the neurite outgrowth by carnosic acid in PC12h cells. *Journal of Biochemistry*, 147, 73–81.
- Kosaka, K., & Yokoi, T. (2003). Carnosic acid, a component of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), promotes synthesis of nerve growth factor in T98G human glioblastoma cells. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 26, 1620–2.
- Koutroumanidou, E., Kimbaris, A., Kortsaris, A., Bezirtzoglou, E., Polissiou, M., Charalabopoulos, K., & Pagonopoulou, O. (2013). Increased seizure latency and decreased severity of pentylenetetrazol-induced seizures in mice after essential oil administration. *Epilepsy Research and Treatment*, 2013, 532657.
-

- Krogsgaard-Larsen, P., Christensen, S. B., & Kofod, H. (1994). The role of Medicinal plants in drug development. In *Natural Products and Drug Development* (pp. 34–45). Copenhagen: Munksgaard.
- Kuo, C.-F., Su, J.-D., Chiu, C.-H., Peng, C.-C., Chang, C.-H., Sung, T.-Y., ... Chyau, C.-C. (2011). Anti-inflammatory effects of supercritical carbon dioxide extract and its isolated carnosic acid from *Rosmarinus officinalis* leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*, 3674–85.
- Kwon, Y.-I. I., Vattem, D. A., & Shetty, K. (2006). Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, *15*, 107–18.
- Lai, C.-S., Lee, J. H., Ho, C.-T., Liu, C. Bin, Wang, J.-M., Wang, Y.-J., & Pan, M.-H. (2009). Rosmanol potently inhibits lipopolysaccharide-induced iNOS and COX-2 expression through downregulating MAPK, NF-kappaB, STAT3 and C/EBP signaling pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*, 10990–8.
- Lavrentiadou, S. N., Tsantarliotou, M. P., Zervos, I. a, Nikolaidis, E., Georgiadis, M. P., & Taitzoglou, I. a. (2013). CCl4 induces tissue-type plasminogen activator in rat brain; protective effects of oregano, rosemary or vitamin E. *Food and Chemical Toxicology*, *61*, 196–202.
- Leal, P. F., Braga, M. E. M., Sato, D. N., Carvalho, J. E., Marques, M. O. M., & Meireles, M. A. A. (2003). Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*, 2520–5.
- Lee, J.-J., Jin, Y.-R., Lee, J.-H., Yu, J.-Y., Han, X.-H., Oh, K.-W., ... Yun, Y.-P. (2007). Antiplatelet activity of carnosic acid, a phenolic diterpene from *Rosmarinus officinalis*. *Planta Medica*, *73*, 121–7.
- Lee, J.-J., Jin, Y.-R., Lim, Y., Hong, J.-T., Kim, T.-J., Chung, J.-H., & Yun, Y.-P. (2006). Antiplatelet activity of carnosol is mediated by the inhibition of TXA2 receptor and cytosolic calcium mobilization. *Vascular Pharmacology*, *45*, 148–53.
- Lee, K.-G., & Shibamoto, T. (2002). Determination of Antioxidant Potential of Volatile Extracts Isolated from Various Herbs and Spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 4947–4952.
- Lian, K.-C., Chuang, J.-J., Hsieh, C.-W., Wung, B.-S., Huang, G.-D., Jian, T.-Y., & Sun, Y.-W. (2010). Dual mechanisms of NF-kappaB inhibition in carnosol-treated endothelial cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *245*, 21–35.
- Lin, C., Chen, J., Fu, R., & Tsai, C. (2014). Induction of Pi Form of Glutathione S-Transferase by Carnosic Acid Is Mediated through PI3K/Akt/NF-κB Pathway and Protects against Neurotoxicity. *Chemical Research in Toxicology*, *27*, 1958–66.
- Lipina, C., & Hundal, H. S. (2014). Carnosic acid stimulates glucose uptake in skeletal muscle cells via a PME-1/PP2A/PKB signalling axis. *Cellular Signalling*, *26*, 2343–9.
-

- Lo, A., Liang, Y., Lin-Shiau, S.-Y., Ho, C., & Lin, J. (2002). Carnosol, an antioxidant in rosemary, suppresses inducible nitric oxide synthase through down-regulating nuclear factor-kappaB in mouse macrophages. *Carcinogenesis*, *23*, 983–91.
- López-Jiménez, A., García-Caballero, M., Medina, M. Á., & Quesada, A. R. (2013). Anti-angiogenic properties of carnosol and carnosic acid, two major dietary compounds from rosemary. *European Journal of Nutrition*, *52*, 85–95.
- Lovkova, M. Y., Buzuk, G. N., Sokolova, S. M., & Kliment'eva, N. I. (2001). Chemical Features of Medicinal Plants (Review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, *37*, 229–237.
- Lucarini, R., Bernardes, W. a, Ferreira, D. S., Tozatti, M. G., Furtado, R., Bastos, J. K., ... Cunha, W. R. (2013). In vivo analgesic and anti-inflammatory activities of *Rosmarinus officinalis* aqueous extracts, rosmarinic acid and its acetyl ester derivative. *Pharmaceutical Biology*, *51*, 1087–90.
- Luqman, S., Dwivedi, G. R., Darokar, M. P., Kalra, A., & Khanuja, S. P. S. (2007). Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, *13*, 54–9.
- Machado, D. G., Bettio, L. E. B., Cunha, M. P., Capra, J. C., Dalmarco, J. B., Pizzolatti, M. G., & Rodrigues, A. L. S. (2009). Antidepressant-like effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* in mice: involvement of the monoaminergic system. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *33*, 642–50.
- Machado, D. G., Cunha, M. P., Neis, V. B., Balen, G. O., Colla, A., Bettio, L. E. B., ... Rodrigues, A. L. S. (2013). Antidepressant-like effects of fractions, essential oil, carnosol and betulinic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. *Food Chemistry*, *136*, 999–1005.
- Machado, D. G., Cunha, M. P., Neis, V. B., Balen, G. O., Colla, A. R., Grando, J., ... Rodrigues, A. L. S. (2012). *Rosmarinus officinalis* L. hydroalcoholic extract, similar to fluoxetine, reverses depressive-like behavior without altering learning deficit in olfactory bulbectomized mice. *Journal of Ethnopharmacology*, *143*, 158–69.
- Machado, D. G., Neis, V. B., Balen, G. O., Colla, A., Cunha, M. P., Dalmarco, J. B., ... Rodrigues, a L. S. (2012). Antidepressant-like effect of ursolic acid isolated from *Rosmarinus officinalis* L. in mice: evidence for the involvement of the dopaminergic system. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *103*, 204–11.
- Mahady, G. B., Pendland, S. L., Stoia, A., Hamill, F. A., Fabricant, D., Dietz, B. M., & Chadwick, L. R. (2005). In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytotherapy Research*, *19*, 988–91.
- Mangena, T., & Muyima, N. Y. (1999). Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbiology*, *28*, 291–6.
-

- Martínez, A. L., González-Trujano, M. E., Chávez, M., & Pellicer, F. (2012). Antinociceptive effectiveness of triterpenes from rosemary in visceral nociception. *Journal of Ethnopharmacology*, *142*, 28–34.
- Martínez, A. L., González-Trujano, M. E., Pellicer, F., López-Muñoz, F. J., & Navarrete, A. (2009). Antinociceptive effect and GC/MS analysis of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from its aerial parts. *Planta Medica*, *75*, 508–11.
- Masuda, T., Inaba, Y., Maekawa, T., Takeda, Y., Tamura, H., & Yamaguchi, H. (2002). Recovery Mechanism of the Antioxidant Activity from Carnosic Acid Quinone, an Oxidized Sage and Rosemary Antioxidant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 5863–5869.
- Masuda, T., Inaba, Y., & Takeda, Y. (2001). Antioxidant Mechanism of Carnosic Acid: Structural Identification of Two Oxidation Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*, 5560–5565.
- Mendonça-Filho, R. R. (2006). Bioactive Phytochemicals: New Approaches in the Phytosciences. In I. Ahmad, F. Aqil, & M. Owais (Eds.), *Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs* (pp. 1–24). Weinheim: John Wiley & Sons.
- Mengoni, E. S., Vichera, G., Rigano, L. a., Rodriguez-Puebla, M. L., Galliano, S. R., Cafferata, E. E., ... Vojnov, A. a. (2011). Suppression of COX-2, IL-1 β and TNF- α expression and leukocyte infiltration in inflamed skin by bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* L. *Fitoterapia*, *82*, 414–21.
- Mimura, J., Kosaka, K., Maruyama, A., Satoh, T., Harada, N., Yoshida, H., ... Itoh, K. (2011). Nrf2 regulates NGF mRNA induction by carnosic acid in T98G glioblastoma cells and normal human astrocytes. *Journal of Biochemistry*, *150*, 209–17.
- Min, K.-J., Jung, K.-J., & Kwon, T. K. (2014). Carnosic Acid Induces Apoptosis Through Reactive Oxygen Species-mediated Endoplasmic Reticulum Stress Induction in Human Renal Carcinoma Caki Cells. *Journal of Cancer Prevention*, *19*, 170–8.
- Minaiyan, M., Ghannadi, a R., Afsharipour, M., & Mahzouni, P. (2011). Effects of extract and essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. on TNBS-induced colitis in rats. *Research in Pharmaceutical Sciences*, *6*, 13–21.
- Minnunni, M., Wolleb, U., Mueller, O., Pfeifer, A., & Aeschbacher, H. U. (1992). Natural antioxidants as inhibitors of oxygen species induced mutagenicity. *Mutation Research*, *269*, 193–200.
- Mohamed, I., Shuid, A., Borhanuddin, B., & Fozzi, N. (2012). The Application of Phytomedicine in Modern Drug Development. *The Internet Journal of Herbal and Plant Medicine*, *1*. Retrieved from <http://ispub.com/IJHPM/1/2/14278>
- Mohammadirad, A., Aghamohammadali-Sarraf, F., Badii, S., Faraji, Z., Hajiaghaee, R., Baeri, M., ... Abdollahi, M. (2013). Anti-aging effects of some selected Iranian folk
-

- medicinal herbs-biochemical evidences. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *16*, 1170–80.
- Moran, A. E., Carothers, A. M., Weyant, M. J., Redston, M., & Bertagnolli, M. M. (2005). Carnosol inhibits beta-catenin tyrosine phosphorylation and prevents adenoma formation in the C57BL/6J/Min/+ (Min/+) mouse. *Cancer Research*, *65*, 1097–104.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S., & Vojnov, A. a. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free Radical Research*, *40*, 223–31.
- Mothana, R. a a, Kriegisch, S., Harms, M., Wende, K., & Lindequist, U. (2011). Assessment of selected Yemeni medicinal plants for their in vitro antimicrobial, anticancer, and antioxidant activities. *Pharmaceutical Biology*, *49*, 200–10.
- Mueller, K., Blum, N. M., & Mueller, A. S. (2013). Examination of the Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Xenobiotic-Inducing Potential of Broccoli Extract and Various Essential Oils during a Mild DSS-Induced Colitis in Rats. *ISRN Gastroenterology*, *2013*, 710856.
- Mukherjee, P. K., N, S. K., & Heinrich, M. (2008). Plant Made Pharmaceuticals (PMPs) - Development of Natural Health Products from Bio-Diversity. *Indian Journal of Pharmaceutical Education & Research*, *42*, 113–121.
- Murata, K., Noguchi, K., Kondo, M., Onishi, M., Watanabe, N., Okamura, K., & Matsuda, H. (2013). Promotion of hair growth by *Rosmarinus officinalis* leaf extract. *Phytotherapy Research*, *27*, 212–7.
- Nabekura, T., Yamaki, T., Hiroi, T., Ueno, K., & Kitagawa, S. (2010). Inhibition of anticancer drug efflux transporter P-glycoprotein by rosemary phytochemicals. *Pharmacological Research*, *61*, 259–63.
- Naemura, A., Ura, M., Yamashita, T., Arai, R., & Yamamoto, J. (2008). Long-term intake of rosemary and common thyme herbs inhibits experimental thrombosis without prolongation of bleeding time. *Thrombosis Research*, *122*, 517–22.
- Naghibi, F., Mosaddegh, M., Motamed, S. M., & Ghorbani, A. (2005). Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 63–79.
- Nguyen, S., Huang, H., Foster, B. C., Tam, T. W., Xing, T., Smith, M. L., ... Akhtar, H. (2014). Antimicrobial and P450 inhibitory properties of common functional foods. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, *17*, 254–65.
- Nogueira de Melo, G. A., Grespan, R., Fonseca, J. P., Farinha, T. O., Silva, E. L., Romero, A. L., ... Cuman, R. K. N. (2011). *Rosmarinus officinalis* L. essential oil inhibits in vivo and in vitro leukocyte migration. *Journal of Medicinal Food*, *14*, 944–6.
-

- Nolkemper, S., Reichling, J., Stintzing, F. C., Carle, R., & Schnitzler, P. (2006). Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. *Planta Medica*, *72*, 1378–82.
- Offord, E. A., Gautier, J.-C., Avanti, O., Scaletta, C., Runge, F., Krämer, K., & Applegate, L. A. (2002). Photoprotective potential of lycopene, beta-carotene, vitamin E, vitamin C and carnosic acid in UVA-irradiated human skin fibroblasts. *Free Radical Biology & Medicine*, *32*, 1293–303.
- Offord, E. A., Macé, K., Avanti, O., & Pfeifer, A. M. (1997). Mechanisms involved in the chemoprotective effects of rosemary extract studied in human liver and bronchial cells. *Cancer Letters*, *114*, 275–281.
- Offord, E. A., Macé, K., Ruffieux, C., Malnoë, A., & Pfeifer, A. M. (1995). Rosemary components inhibit benzo[a]pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis*, *16*, 2057–62.
- Okumura, N., Yoshida, H., Nishimura, Y., Kitagishi, Y., & Matsuda, S. (2012). Terpinolene, a component of herbal sage, downregulates AKT1 expression in K562 cells. *Oncology Letters*, *3*, 321–324.
- Oluwatuyi, M., Kaatz, G. W., & Gibbons, S. (2004). Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*. *Phytochemistry*, *65*, 3249–54.
- Ozarowski, M., Mikolajczak, P. L., Bogacz, A., Gryszczynska, A., Kujawska, M., Jodynisk-Liebert, J., ... Mrozikiewicz, P. M. (2013). *Rosmarinus officinalis* L. leaf extract improves memory impairment and affects acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in rat brain. *Fitoterapia*, *91*, 261–71.
- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L., & Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, *39*, 167–70.
- Papageorgiou, V., Gardeli, C., Mallouchos, A., Papaioannou, M., & Komaitis, M. (2008). Variation of the chemical profile and antioxidant behavior of *Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia fruticosa* Miller grown in Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*, 7254–64.
- Papageorgiou, V., Mallouchos, A., & Komaitis, M. (2008). Investigation of the antioxidant behavior of air- and freeze-dried aromatic plant materials in relation to their phenolic content and vegetative cycle. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*, 5743–52.
- Park, J. B. (2011). Identification and quantification of a major anti-oxidant and anti-inflammatory phenolic compound found in basil, lemon thyme, mint, oregano, rosemary, sage, and thyme. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *62*, 577–84.
- Park, M., Han, J., Lee, C. S., Soo, B. H., Lim, K.-M., & Ha, H. (2013). Carnosic acid, a phenolic diterpene from rosemary, prevents UV-induced expression of matrix
-

- metalloproteinases in human skin fibroblasts and keratinocytes. *Experimental Dermatology*, 22, 336–41.
- Park, M.-Y., & Mun, S. T. (2013). Dietary carnosic acid suppresses hepatic steatosis formation via regulation of hepatic fatty acid metabolism in high-fat diet-fed mice. *Nutrition Research and Practice*, 7, 294–301.
- Park, M.-Y., & Mun, S. T. (2014). Carnosic acid inhibits TLR4-MyD88 signaling pathway in LPS-stimulated 3T3-L1 adipocytes. *Nutrition Research and Practice*, 8, 516–20.
- Park, M.-Y., & Sung, M.-K. (2014). Carnosic acid attenuates obesity-induced glucose intolerance and hepatic fat accumulation by modulating genes of lipid metabolism in C57BL/6J-ob/ob mice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. doi:10.1002/jsfa.6973
- Park, S. Y., Song, H., Sung, M.-K., Kang, Y.-H., Lee, K. W., & Park, J. H. Y. (2014). Carnosic acid inhibits the epithelial-mesenchymal transition in B16F10 melanoma cells: a possible mechanism for the inhibition of cell migration. *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 12698–713.
- Park, S.-E., Kim, S., Sapkota, K., & Kim, S.-J. (2010). Neuroprotective effect of *Rosmarinus officinalis* extract on human dopaminergic cell line, SH-SY5Y. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 30, 759–67.
- Peng, C.-H., Su, J.-D., Chyau, C.-C., Sung, T.-Y., Ho, S.-S., Peng, C.-C., & Peng, R. Y. (2007). Supercritical fluid extracts of rosemary leaves exhibit potent anti-inflammation and anti-tumor effects. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71, 2223–32.
- Pérez-Fons, L., Garzón, M. T., & Micol, V. (2010). Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols on membrane phospholipid order. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 161–71.
- Pérez-Sánchez, A., Barrajon-Catalán, E., Caturla, N., Castillo, J., Benavente-García, O., Alcaraz, M., & Micol, V. (2014). Protective effects of citrus and rosemary extracts on UV-induced damage in skin cell model and human volunteers. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 136, 12–8.
- Petiwala, S. M., Berhe, S., Li, G., Puthenveetil, A. G., Rahman, O., Nonn, L., & Johnson, J. J. (2014). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract modulates CHOP/GADD153 to promote androgen receptor degradation and decreases xenograft tumor growth. *PLoS One*, 9, e89772.
- Petrolini, F. V. B., Lucarini, R., de Souza, M. G. M., Pires, R. H., Cunha, W. R., & Martins, C. H. G. (2013). Evaluation of the antibacterial potential of *Petroselinum crispum* and *Rosmarinus officinalis* against bacteria that cause urinary tract infections. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 829–34.
- PoECKel, D., Greiner, C., Verhoff, M., Rau, O., Tausch, L., Hörnig, C., ... Werz, O. (2008). Carnosic acid and carnosol potently inhibit human 5-lipoxygenase and suppress pro-
-

inflammatory responses of stimulated human polymorphonuclear leukocytes. *Biochemical Pharmacology*, 76, 91–7.

- Posadas, S. J., Caz, V., Largo, C., De la Gándara, B., Matallanas, B., Reglero, G., & De Miguel, E. (2009). Protective effect of supercritical fluid rosemary extract, *Rosmarinus officinalis*, on antioxidants of major organs of aged rats. *Experimental Gerontology*, 44, 383–9.
- Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., & Ignacimuthu, S. (2006). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6, 39.
- Prasad, S., Yadav, V. R., Kannappan, R., & Aggarwal, B. B. (2011). Ursolic acid, a pentacyclin triterpene, potentiates TRAIL-induced apoptosis through p53-independent up-regulation of death receptors: evidence for the role of reactive oxygen species and JNK. *The Journal of Biological Chemistry*, 286, 5546–57.
- Qabaha, K. (2013). Antimicrobial and free radical scavenging activities of five palestinian medicinal plants. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 10, 101–108.
- Rahimifard, M., Navaei-Nigjeh, M., Mahroui, N., Mirzaei, S., Siahpoosh, Z., Nili-Ahmadabadi, A., ... Abdollahi, M. (2014). Improvement in The Function of Isolated Rat Pancreatic Islets through Reduction of Oxidative Stress Using Traditional Iranian Medicine. *Cell Journal*, 16, 147–163.
- Raja, R. R. (2012). Medicinally Potential Plants of Labiatae (Lamiaceae) Family: An Overview. *Research Journal of Medicinal Plant*, 6, 203–213.
- Ramachandran, C., Quirin, K.-W., Escalon, E., & Melnick, S. J. (2014). Improved neuroprotective effects by combining *Bacopa monnieri* and *Rosmarinus officinalis* supercritical CO₂ extracts. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 19, 119–27.
- Ramadan, K. S., Khalil, O. a, Danial, E. N., Alnahdi, H. S., & Ayaz, N. O. (2013). Hypoglycemic and hepatoprotective activity of *Rosmarinus officinalis* extract in diabetic rats. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 69, 779–83.
- Raskin, I., Ribnicky, D. M., Komarnytsky, S., Ilic, N., Poulev, A., Borisjuk, N., ... Fridlender, B. (2002). Plants and human health in the twenty-first century. *Trends in Biotechnology*, 20, 522–31.
- Rašković, A., Milanović, I., Pavlović, N., Čebović, T., Vukmirović, S., & Mikov, M. (2014). Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 225.
- Rates, S. M. K. (2001). Plants as source of drugs. *Toxicon*, 39, 603–13.
- Rau, O., Wurglics, M., Paulke, A., Zitzkowski, J., Meindl, N., Bock, A., ... Schubert-Zsilavecz, M. (2006). Carnosic acid and carnosol, phenolic diterpene compounds of the
-

- labiate herbs rosemary and sage, are activators of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Planta Medica*, 72, 881–7.
- Razavi-Azarkhiavi, K., Behravan, J., Mosaffa, F., Sehatbakhsh, S., Shirani, K., & Karimi, G. (2014). Protective effects of aqueous and ethanol extracts of rosemary on H₂O₂-induced oxidative DNA damage in human lymphocytes by comet assay. *Journal of Complementary & Integrative Medicine*, 11, 27–33.
- Reichling, J., Nolkemper, S., Stintzing, F. C., & Schnitzler, P. (2008). Impact of ethanolic lamiaceae extracts on herpesvirus infectivity in cell culture. *Forschende Komplementärmedizin*, 15, 313–20.
- Robbers, J. E., Speedie, M. K., & Tyler, V. E. (1996). *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology* (p. 337). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Rocha, J., Eduardo-Figueira, M., Barateiro, A., Fernandes, A., Brites, D., Bronze, R., ... Sepodes, B. (2014). Anti-inflammatory Effect of Rosmarinic Acid and an Extract of *Rosmarinus officinalis* in Rat Models of Local and Systemic Inflammation. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. doi:10.1111/bcpt.12335
- Romo Vaquero, M., Yáñez-Gascón, M.-J., García Villalba, R., Larrosa, M., Fromentin, E., Ibarra, A., ... García-Conesa, M.-T. (2012). Inhibition of gastric lipase as a mechanism for body weight and plasma lipids reduction in Zucker rats fed a rosemary extract rich in carnosic acid. *PloS One*, 7, e39773.
- Romo-Vaquero, M., Larrosa, M., Yáñez-Gascón, M. J., Issaly, N., Flanagan, J., Roller, M., ... García-Conesa, M.-T. (2014). A rosemary extract enriched in carnosic acid improves circulating adipocytokines and modulates key metabolic sensors in lean Zucker rats: Critical and contrasting differences in the obese genotype. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58, 942–53.
- Rout, S. P., Choudary, K. A., Kar, D. M., Das, L., & Jain, A. (2009). Plants in traditional medicinal system -future source of new drugs. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1, 1–23.
- Sagorchev, P., Lukanov, J., & Beer, a M. (2010). Investigations into the specific effects of rosemary oil at the receptor level. *Phytomedicine*, 17, 693–7.
- Salim, A. A., Chin, Y.-W., & Kinghorn, A. D. (2008). Drug discovery from plants. In K. G. Ramawat & J. M. Merillon (Eds.), *Bioactive Molecules and Medicinal Plants* (pp. 1–24). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Samuelsson, G., & Bohlin, L. (2010). *Drugs of Natural Origin: A Treatise of Pharmacognosy* (6th ed., p. 776). Stockholm: Swedish Pharmaceutical Press.
- Sancheti, G., & Goyal, P. (2006a). Modulatory influence of *Rosmarinus officinalis* on DMBA-induced mouse skin tumorigenesis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 7, 331–5.
-

- Sancheti, G., & Goyal, P. K. (2006b). Effect of *Rosmarinus officinalis* in modulating 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced skin tumorigenesis in mice. *Phytotherapy Research*, *20*, 981–6.
- Sasaki, K., El Omri, A., Kondo, S., Han, J., & Isoda, H. (2013). *Rosmarinus officinalis* polyphenols produce anti-depressant like effect through monoaminergic and cholinergic functions modulation. *Behavioural Brain Research*, *238*, 86–94.
- Satoh, T., Kosaka, K., Itoh, K., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Shimojo, Y., ... Lipton, S. a. (2008). Carnosic acid, a catechol-type electrophilic compound, protects neurons both in vitro and in vivo through activation of the Keap1/Nrf2 pathway via S-alkylation of targeted cysteines on Keap1. *Journal of Neurochemistry*, *104*, 1116–31.
- Scheckel, K. a, Degner, S. C., & Romagnolo, D. F. (2008). Rosmarinic acid antagonizes activator protein-1-dependent activation of cyclooxygenase-2 expression in human cancer and nonmalignant cell lines. *The Journal of Nutrition*, *138*, 2098–105.
- Schelz, Z., Molnar, J., & Hohmann, J. (2006). Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*, *77*, 279–85.
- Sebai, H., Selmi, S., Rtibi, K., Gharbi, N., & Sakly, M. (2014). Protective Effect of *Lavandula stoechas* and *Rosmarinus officinalis* Essential Oils Against Reproductive Damage and Oxidative Stress in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Food*, *00*, 1–9.
- Shabtay, A., Sharabani, H., Barvish, Z., Kafka, M., Amichay, D., Levy, J., ... Danilenko, M. (2008). Synergistic antileukemic activity of carnosic acid-rich rosemary extract and the 19-nor Gemini vitamin D analogue in a mouse model of systemic acute myeloid leukemia. *Oncology*, *75*, 203–14.
- Sharabani, H., Izumchenko, E., Wang, Q., Kreinin, R., Steiner, M., Barvish, Z., ... Danilenko, M. (2006). Cooperative antitumor effects of vitamin D3 derivatives and rosemary preparations in a mouse model of myeloid leukemia. *International Journal of Cancer*, *118*, 3012–21.
- Shimojo, Y., Kosaka, K., Noda, Y., Shimizu, T., & Shirasawa, T. (2010). Effect of rosmarinic acid in motor dysfunction and life span in a mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuroscience Research*, *88*, 896–904.
- Shin, H.-B., Choi, M.-S., Ryu, B., Lee, N.-R., Kim, H.-I., Choi, H.-E., ... Inn, K.-S. (2013). Antiviral activity of carnosic acid against respiratory syncytial virus. *Virology Journal*, *10*, 303.
- Shin, S. (2003). Anti-*Aspergillus* activities of plant essential oils and their combination effects with ketoconazole or amphotericin b. *Archives of Pharmacal Research*, *26*, 389–393.
- Sienkiewicz, M., Łysakowska, M., Pastuszka, M., Bienias, W., & Kowalczyk, E. (2013). The potential of use basil and rosemary essential oils as effective antibacterial agents. *Molecules*, *18*, 9334–51.
-

- Silva, A. M. de O. E., Machado, I. D., Santin, J. R., de Melo, I. L. P., Pedrosa, G. V., Genovese, M. I., ... Mancini-Filho, J. (2014). Aqueous Extract of *Rosmarinus officinalis* L. Inhibits Neutrophil Influx and Cytokine Secretion. *Phytotherapy Research*. doi:10.1002/ptr.5238
- Singletary, K., MacDonald, C., & Wallig, M. (1996). Inhibition by rosemary and carnosol of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and in vivo DMBA-DNA adduct formation. *Cancer Letters*, *104*, 43–48.
- Singletary, K. W. (1996). Rosemary extract and carnosol stimulate rat liver glutathione-S-transferase and quinone reductase activities. *Cancer Letters*, *100*, 139–144.
- Singletary, K. W., & Nelshoppen, J. M. (1991). Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced mammary tumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer Letters*, *60*, 169–75.
- Slamenova, D., Kuboskova, K., Horvathova, E., & Robichova, S. (2002). Rosemary-stimulated reduction of DNA strand breaks and FPG-sensitive sites in mammalian cells treated with H₂O₂ or visible light-excited Methylene Blue. *Cancer Letters*, *177*, 145–53.
- Solhi, H., Salehi, B., Alimoradian, A., Pazouki, S., Taghizadeh, M., Saleh, A. M., & Kazemifar, A. M. (2013). Beneficial Effects of *Rosmarinus Officinalis* for Treatment of Opium Withdrawal Syndrome during Addiction Treatment Programs: A Clinical Trial. *Addiction & Health*, *5*, 90–4.
- Sotelo-Félix, J. I., Martinez-Fong, D., Muriel, P., Santillán, R. L., Castillo, D., & Yahuaca, P. (2002). Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*, *81*, 145–54.
- Steiner, M., Priel, I., Giat, J., Levy, J., Sharoni, Y., & Danilenko, M. (2001). Carnosic acid inhibits proliferation and augments differentiation of human leukemic cells induced by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and retinoic acid. *Nutrition and Cancer*, *41*, 135–44.
- Swain, T. (1972). *Plants in the Development of Modern Medicine*. (T. Swain, Ed.) (p. 382). Harvard University Press.
- Tai, J., Cheung, S., Wu, M., & Hasman, D. (2012). Antiproliferation effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on human ovarian cancer cells in vitro. *Phytomedicine*, *19*, 436–43.
- Takaki, I., Bersani-Amado, L. E., Vendruscolo, A., Sartoretto, S. M., Diniz, S. P., Bersani-Amado, C. a, & Cuman, R. K. N. (2008). Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in experimental animal models. *Journal of Medicinal Food*, *11*, 741–6.
- Theoduloz, C., Pertino, M. W., Rodríguez, J. a, & Schmeda-Hirschmann, G. (2011). Gastroprotective effect and cytotoxicity of carnosic acid derivatives. *Planta Medica*, *77*, 882–7.
-

- Topal, U., Sasaki, M., Goto, M., & Otles, S. (2008). Chemical compositions and antioxidant properties of essential oils from nine species of Turkish plants obtained by supercritical carbon dioxide extraction and steam distillation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *59*, 619–634.
- Tsai, C., Lin, C., & Wang, Y. (2011). Carnosic acid induces the NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 expression in rat clone 9 cells through the p38/nuclear factor erythroid-2 related factor 2 pathway. *The Journal of Nutrition*, *141*, 2119–25.
- Tsai, C.-W., Lin, C.-Y., Lin, H.-H., & Chen, J.-H. (2011). Carnosic acid, a rosemary phenolic compound, induces apoptosis through reactive oxygen species-mediated p38 activation in human neuroblastoma IMR-32 cells. *Neurochemical Research*, *36*, 2442–51.
- Tsai, C.-W., Liu, K.-L., Lin, Y.-R., & Kuo, W.-C. (2014). The mechanisms of carnosic acid attenuates tumor necrosis factor- α -mediated inflammation and insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular Nutrition & Food Research*, *58*, 654–64.
- Tsai, P., Tsai, T., & Ho, S. (2007). In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food Chemistry*, *105*, 311–316.
- Tsai, T.-H., Chuang, L.-T., Lien, T.-J., Liing, Y.-R., Chen, W.-Y., & Tsai, P.-J. (2013). *Rosmarinus officinalis* extract suppresses *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory responses. *Journal of Medicinal Food*, *16*, 324–33.
- Tu, Z., Moss-Pierce, T., Ford, P., & Jiang, T. A. (2013). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extract regulates glucose and lipid metabolism by activating AMPK and PPAR pathways in HepG2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*, 2803–10.
- Ulbricht, C., Abrams, T. R., Brigham, A., Ceurvels, J., Clubb, J., Curtiss, W., ... Windsor, R. C. (2010). An evidence-based systematic review of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) by the Natural Standard Research Collaboration. *Journal of Dietary Supplements*, *7*, 351–413.
- Valdés, A., García-Cañas, V., Rocamora-Reverte, L., Gómez-Martínez, A., Ferragut, J. A., & Cifuentes, A. (2013). Effect of rosemary polyphenols on human colon cancer cells: transcriptomic profiling and functional enrichment analysis. *Genes & Nutrition*, *8*, 43–60.
- Valdés, A., García-Cañas, V., Simó, C., Ibáñez, C., Micol, V., Ferragut, J. a, & Cifuentes, A. (2014). Comprehensive foodomics study on the mechanisms operating at various molecular levels in cancer cells in response to individual rosemary polyphenols. *Analytical Chemistry*, *86*, 9807–15.
- Valdés, A., Simó, C., Ibáñez, C., Rocamora-Reverte, L., Ferragut, J. A., García-Cañas, V., & Cifuentes, A. (2012). Effect of dietary polyphenols on K562 leukemia cells: a Foodomics approach. *Electrophoresis*, *33*, 2314–27.
-

- Ventura-Martínez, R., Rivero-Osorno, O., Gómez, C., & González-Trujano, M. E. (2011). Spasmolytic activity of *Rosmarinus officinalis* L. involves calcium channels in the guinea pig ileum. *Journal of Ethnopharmacology*, *137*, 1528–32.
- Vicente, G., Molina, S., González-Vallinas, M., García-Risco, M. R., Fornari, T., Reglero, G., & de Molina, A. R. (2013). Supercritical rosemary extracts, their antioxidant activity and effect on hepatic tumor progression. *The Journal of Supercritical Fluids*, *79*, 101–108.
- Vijayan, P., Raghu, C., Ashok, G., Dhanaraj, S. A., & Suresh, B. (2004). Antiviral activity of medicinal plants of Nilgiris. *The Indian Journal of Medical Research*, *120*, 24–9.
- Visanji, J. M., Thompson, D. G., & Padfield, P. J. (2006). Induction of G2/M phase cell cycle arrest by carnosol and carnosic acid is associated with alteration of cyclin A and cyclin B1 levels. *Cancer Letters*, *237*, 130–6.
- Viuda-Martos, M., El Gendy, A. E.-N. G. S., Sendra, E., Fernández-López, J., Abd El Razik, K. a, Omer, E. a, & Pérez-Alvarez, J. a. (2010). Chemical composition and antioxidant and anti-*Listeria* activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*, 9063–70.
- Wagstaff, S. J., Hickerson, L., Spangler, R., Reeves, P. A., & Olmstead, R. G. (1998). Phylogeny in Labiatae s. l., inferred from cpDNA sequences. *Plant Systematics and Evolution*, *209*, 265–274.
- Wang, R., Li, H., Guo, G., Li, X., Yu, X., Wang, J., ... Chen, X. (2008). Augmentation by Carnosic Acid of Apoptosis in Human Leukaemia Cells Induced by Arsenic Trioxide via Upregulation of the Tumour Suppressor PTEN. *Journal of International Medical Research*, *36*, 682–690.
- Wang, T., Takikawa, Y., Tabuchi, T., Satoh, T., Kosaka, K., & Suzuki, K. (2012). Carnosic acid (CA) prevents lipid accumulation in hepatocytes through the EGFR/MAPK pathway. *Journal of Gastroenterology*, *47*, 805–13.
- Wang, W., Li, N., Luo, M., Zu, Y., & Efferth, T. (2012). Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. *Molecules*, *17*, 2704–13.
- Watt, K., Christofi, N., & Young, R. (2007). The detection of antibacterial actions of whole herb tinctures using luminescent *Escherichia coli*. *Phytotherapy Research*, *21*, 1193–9.
- Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K., & Schempp, C. M. (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*, *14*, 508–16.
- Weerakkody, N. S., Caffin, N., Lambert, L. K., Turner, M. S., & Dykes, G. a. (2011). Synergistic antimicrobial activity of galangal (*Alpinia galanga*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and lemon iron bark (*Eucalyptus staigerana*) extracts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *91*, 461–8.
-

- Wellwood, C. R. L., & Cole, R. A. (2004). Relevance of carnosic acid concentrations to the selection of rosemary, *Rosmarinus officinalis* (L.), accessions for optimization of antioxidant yield. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*, 6101–7.
- WHO. (2009). *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants* (Vol. 4, p. 456). Geneva: World Health Organization.
- Wichtl, M. (2004). *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals* (3rd ed., p. 708). Medpharm.
- Wijeratne, S. S. K., & Cuppett, S. L. (2007). Potential of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) diterpenes in preventing lipid hydroperoxide-mediated oxidative stress in Caco-2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*, 1193–9.
- Xiang, Q., Liu, Z., Wang, Y., Xiao, H., Wu, W., Xiao, C., & Liu, X. (2013). Carnosic acid attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury in rats via fortifying cellular antioxidant defense system. *Food and Chemical Toxicology*, *53*, 1–9.
- Xiang, Q., Ma, Y., Dong, J., & Shen, R. (2014). Carnosic acid induces apoptosis associated with mitochondrial dysfunction and Akt inactivation in HepG2 cells. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *7486*, 1–9.
- Yamamoto, J., Yamada, K., Naemura, A., Yamashita, T., & Arai, R. (2005). Testing various herbs for antithrombotic effect. *Nutrition*, *21*, 580–7.
- Yang, S.-A., Jeon, S.-K., Lee, E.-J., Shim, C.-H., & Lee, I.-S. (2010). Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Natural Product Research*, *24*, 140–51.
- Yesil-Celiktas, O., Nartop, P., Gurel, A., Bedir, E., & Vardar-Sukan, F. (2007). Determination of phenolic content and antioxidant activity of extracts obtained from *Rosmarinus officinalis* calli. *Journal of Plant Physiology*, *164*, 1536–42.
- Yesil-Celiktas, O., Sevimli, C., Bedir, E., & Vardar-Sukan, F. (2010). Inhibitory effects of rosemary extracts, carnosic acid and rosmarinic acid on the growth of various human cancer cell lines. *Plant Foods for Human Nutrition*, *65*, 158–63.
- Yoshida, H., Meng, P., Matsumiya, T., Tanji, K., Hayakari, R., Xing, F., ... Imaizumi, T. (2014). Carnosic acid suppresses the production of amyloid- β 1-42 and 1-43 by inducing an α -secretase TACE/ADAM17 in U373MG human astrocytoma cells. *Neuroscience Research*, *79*, 83–93.
- Yu, M.-H., Choi, J.-H., Chae, I.-G., Im, H.-G., Yang, S.-A., More, K., ... Lee, J. (2013). Suppression of LPS-induced inflammatory activities by *Rosmarinus officinalis* L. *Food Chemistry*, *136*, 1047–54.
- Yu, Y.-M., Lin, H.-C., & Chang, W.-C. (2008). Carnosic acid prevents the migration of human aortic smooth muscle cells by inhibiting the activation and expression of matrix metalloproteinase-9. *The British Journal of Nutrition*, *100*, 731–8.
-

- Yun, Y. S., Noda, S., Shigemori, G., Kuriyama, R., Takahashi, S., Umemura, M., ... Inoue, H. (2013). Phenolic diterpenes from rosemary suppress cAMP responsiveness of gluconeogenic gene promoters. *Phytotherapy Research*, 27, 906–10.
- Zaouali, Y., Bouzaine, T., & Boussaid, M. (2010). Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 3144–52.
- Zegura, B., Dobnik, D., Niderl, M. H., & Filipič, M. (2011). Antioxidant and antigenotoxic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in *Salmonella typhimurium* TA98 and HepG2 cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 32, 296–305.
- Zeng, H. H., Tu, P. F., Zhou, K., Wang, H., Wang, B. H., & Lu, J. F. (2001). Antioxidant properties of phenolic diterpenes from *Rosmarinus officinalis*. *Acta Pharmacologica Sinica*, 22, 1094–8.
- Zhang, Y., Adelakun, T. A., Qu, L., Li, X., Li, J., Han, L., & Wang, T. (2014). New terpenoid glycosides obtained from *Rosmarinus officinalis* L. aerial parts. *Fitoterapia*, 99C, 78–85.
- Zhao, P., Lee, D. Y., Ma, Z., Huang, L., Sun, L., Li, Y., ... Niu, J. (2012). The antioxidant effect of carnosol in bovine aortic endothelial cells is mainly mediated via estrogen receptor α pathway. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 35, 1947–55.
- Zhu, B. T., Loder, D. P., Cai, M. X., Ho, C. T., Huang, M. T., & Conney, A. H. (1998). Dietary administration of an extract from rosemary leaves enhances the liver microsomal metabolism of endogenous estrogens and decreases their uterotrophic action in CD-1 mice. *Carcinogenesis*, 19, 1821–7.

Apêndices

Estudo de compostos bioactivos e actividades biológicas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Apêndice I

Apêndice I - Exemplos de estudos de *Rosmarinus officinalis* L. reportados até 1999;

Actividade biológica	Extracto 1- Método 2- Solvente	Método de teste da actividade	Compostos isolados	Observações	Referência
Anticancerígeno Anti-inflamatório	Extracto Metanólico ¹ 1/2- <i>Extracção com Metanol 60° por 2h num extractor</i> Extracto Hexano ² 1- Maceração (25°C, 2-3h) 2- <i>Hexano</i>	Avaliação da % de tumores em ratos induzidos; Avaliação do edema na orelha de ratos com inflamação induzida	1) Ácido ursólico ¹ 2) Carnosol ²	Análise HPLC ¹ : -Ácido ursólico (16.5-19.2%) -Carnosol (3.8-4.6%) -Ácido carnósico (0.1-0.5%)	(M. T. Huang et al., 1994)
Anti-inflamatório	Extracto Hexano 1- Maceração (25°C, 2-3h) 2- <i>Hexano</i>	Avaliação da produção de óxido nítrico em macrófagos de ratos	1) Carnosol	_____	(Chan et al., 1995)
Antioxidante	Extracto em óleo de triglicérideos de cadeia média	Método <i>Rancimat</i> e Peroxidação lipídica	_____	Análise HPLC: -Carnosol (0.6% m/v) -Ácido carnósico (4.4% m/v)	(O. Aruoma et al., 1996)
Estimulante Hepático	Extracto Herbalox, Tipo 0*	Avaliação da actividade da glutationa-S-transferase (GST) e NADPH:quinona reductase (QR) do fígado de ratos	1) Carnosol*	_____	(K. W. Singletary, 1996)
Anticancerígeno	Extracto Herbalox, Tipo 0*	Avaliação da % de tumores e da ligação de DMBA (carcinogénico) ao DNA em ratos induzidos	1) Carnosol*	_____	(K. Singletary et al., 1996)
Anticancerígeno	Extracto de Alecrim*	Avaliação da formação de aductos no DNA, actividade de CYP3A4 e CYP1A2 e expressão da GST, em células bronquiais e hepáticas humanas	_____	Ácido carnósico e carnosol constituem 15% do extracto	(Offord et al., 1997)
Antibacteriano Antifúngico	Hidrodestilação	Método de difusão em ágar	1) Óleo essencial	Análise GC-MS: -1,8 cineol (31.12) -Cânfora (30.12) - α -pineno (18.18)	(Mangena & Muyima, 1999)
Hepatoprotector Antimutagénico	Hidrodestilação (3h) ¹ : a) Extracto etanólico	Avaliação biológica e histológica em ratos administrados com tetracloreto de carbono e ciclofosfamida	1) Óleo essencial ¹	Análise GC-MS ¹ : -Acetato de bornilo (26,86%) -L-Cânfora (14,06%)	(A. Fahim, Amr Y. Esmat, Hoda M. Fad, 1999)
Inibidor da Glicoproteína-P	Extracto Metanólico 1- 2h a 60°C 2- <i>Metanol</i>	Avaliação da acumulação e efluxo de doxorubicina e vinblastina em células de cancro da mama humano	_____	_____	(Ciolino et al., 1999)

*Composto não isolado a partir do extracto/produto fornecido por empresa

Estudo de compostos bioactivos e actividades biológicas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Apêndice II

Apêndice II - Exemplos de estudos de *Rosmarinus officinalis* L. reportados entre 2000 e 2009;

Actividade biológica	Extracto 1- Método 2- Solvente	Método de teste da actividade	Compostos isolados	Observações	Referência
Diurético	Extracto Aquoso 1- Infusão 2- Água	Avaliação do volume urinário, excreção de Na ⁺ , K ⁺ e Cl ⁻ , concentração de ureia e creatinina e clearance renal, em ratos Wistar	_____	_____	(Haloui et al., 2000)
Anti-ulceroso	Extracto Hidroalcoólico 1- Maceração 4h 2- Etanol 70%	Avaliação das lesões no estômago de ratos Wistar com úlceras induzidas	_____	_____	(Corrêa Dias et al., 2000)
Antioxidante	_____	Avaliação do anião superóxido e Teste TBARS (Substâncias Reactivas ao Ácido Tiobarbitúrico)	1) Carnosol* 2) Rosmanol* 3) Epirosmanol*	_____	(Zeng et al., 2001)
Anticancerígeno	_____	Citotoxicidade em células de leucemia linfoblástica aguda e avaliação da proteína Bcl-2 (B-Cell <i>Lymphoma</i> 2)	1) Carnosol*	_____	(Dörrie et al., 2001)
Antioxidante Anti-inflamatório	Extracto Metanólico ¹ 1- Maceração 2- Metanol Extracto Etanólico ² 1- Decocção 2- Metanol Extracção com hexano e n-butanol ³	Método DPPH e avaliação da produção de Óxido Nítrico (NO), expressão do gene óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) em células da linhagem RAW 264.7 de macrófagos	1) Carnosol ¹ 2) Ácido ursólico ² 3) Ácido carnósico ³ 4) Ácido rosmarínico ³	_____	(Lo et al., 2002)
Hepatoprotector	Extracto Metanólico 1- 2h a 60°C 2- Metanol	Avaliação da peroxidação lipídica hepática, glutatona S-transferase, e bilirrubina e alanina aminotransferase, em ratos induzidos com CCl ₄	_____	Análise HPLC: -Carnosol (3,02%)	(Sotelo-Félix et al., 2002)
Antioxidante	6 Extractos diferentes 1- Maceração 2- Água, metanol, acetona	Método de <i>Rancimat</i> e Teste TBA (ácido tiobarbitúrico)	1) Carnosol 2) Ácido carnósico 3) Ácido rosmarínico 4) Ácido 12- <i>O</i> -metilcarnósico 5) Flavonas	_____	(del Baño et al., 2003)
Antibacteriano	Extracto Clorofórmio 1- Maceração 2- Clorofórmio	Método de Microdiluição: Concentração Inibitória Mínima (MIC) Avaliação das actividades inibidoras de efluxo	1) Carnosol 2) Ácido carnósico 3) 4,7-Dimetoxi-5-hidroxi-flavona 4) Ácido 12-metoxi-cis/trans-carnósico	_____	(Oluwatuyi et al., 2004)
Anticancerígeno	Extracto Metanólico 1- Maceração 2- Metanol	Avaliação do potencial antimetástico, migração e invasão de células de melanoma B16/F10 e da metaloproteinase	1) Carnosol	_____	(S.-C. Huang et al., 2005)

Estudo de compostos bioactivos e actividades biológicas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Anti-inflamatório	Extracto com mistura de compostos*	Avaliação do nº de células inflamatórias e expressão de citocinas e chemocinas no fluido broncoalveolar e pulmões de ratos	_____	Composição do extracto: - 1,8-cineol (43%) - Cânfora (41%) - Limoneno (14%) - Borneol (2,5%) - α -pineno (0,5%)	(Inoue et al., 2006)
Antivírico	Extracto aquoso 2- Água fervente (15min)	Ensaio por redução de placas em células RC-37 contra o vírus <i>Herpes simplex</i>	_____	Análise HPLC-MS: -Ácido rosmarínico -Luteolina 3-glucuronide	(Nolkemper et al., 2006)
Anticancerígeno	Extracto aquoso 1- Aparelho Soxhlet 2- Água 50-60°C (36h)	Avaliação histológica de tumores, peroxidação lipídica e níveis de glutathione, em ratos induzidos com DMBA	_____	_____	(Sancheti & Goyal, 2006a)
Antibacteriano Antifúngico Antioxidante	Hidrodestilação	Método de difusão em ágar, Técnica de microdiluição, Capacidade sequestradora de radicais livre (Método DPPH) e Peroxidação lipídica	1) Óleo essencial	Análise GC-MS: -Limoneno (21.7%) -Cânfora (21.6%) - α -pineno (13.5%)	(Bozin et al., 2007)
Antibacteriano Antifúngico	Hidrodestilação (3-4h) com aparelho de Clevenger	Método de diluição em caldo e Método de difusão por disco: Concentração Inibitória Mínima (MIC), Concentração Bactericida Mínima (MBC) e Concentração Fungicida Mínima (MFC)	1) Óleo essencial	_____	(Luqman et al., 2007)
Antiagregante plaquetário	_____	Avaliação da agregação plaquetária em coelhos induzidos por trombina, ácido araquidónico e colagénio	1) Ácido carnósico*	_____	(J.-J. Lee et al., 2007)
Anticancerígeno Anti-inflamatório Antioxidante	Extracto Etanólico 1- 2h a 55°C 2- Etanol 70%	Actividade anti-proliferativa em células de leucemia e carcinoma da mama; Medição de Óxido Nítrico (NO) e citocinas; e Teste TEAC (<i>Trolox equivalent antioxidant capacity</i>)	_____	_____	(Cheung & Tai, 2007)
Analgésico	Extracto Etanólico 1- Maceração 48h, 22°C 2- Etanol	Teste de <i>Writhing</i> induzido por ácido acético, Teste da Formalina e Modelo PIFIR (<i>Pain-induced functional impairment model in the rat</i>), em ratos	_____	_____	(González-Trujano et al., 2007)
Antibacteriano	a) Extracto Aquoso 1- Infusão 2- Água b) Extracto Metanólico 1- Maceração 2- Metanol	Método de microdiluição em caldo e avaliação da actividade de glucosiltransferase	_____	_____	(P. Tsai et al., 2007)
Anti-inflamatório Analgésico	Destilação a vapor com aparelho de Clevenger	Avaliação do edema induzido em ratos; Teste de <i>Writhing</i> induzido por ácido acético	1) Óleo essencial	Análise GC-MS: -Mirceno (24.6%) -1,8-Cineol (19.8%)	(Takaki et al., 2008)
Anti-inflamatório	_____	Avaliação da inibição de lipoxigenases, formação de espécies reactivas de oxigénio (ROS) e mobilização de Ca ²⁺ em leucócitos polimorfonucleares humanos	1) Carnosol* 2) Ácido carnósico*	_____	(Poeckel et al., 2008)
Antidiabético Antioxidante	Extracto Etanólico 1- Destilação Soxhlet 50°, 12h 2- Etanol 95%	Avaliação dos níveis de insulina e glucose em ratos com diabetes induzida, Peroxidação lipídica e de enzimas antioxidantes	_____	_____	(Bakirel et al., 2008)

Estudo de compostos bioactivos e actividades biológicas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Analgésico	Hidrodestilação (1h)	Avaliação dos efeitos antinociceptivos por Modelo PIFIR em ratos	1) Óleo essencial	Análise GC-MS: - α -pineno (14.1%) - β -pineno (12.02%) - Canfeno (11.47%) - Cânfora (8.75%)	(Ana L Martínez et al., 2009)
Antibacteriano Antioxidante	4 formulações de extractos*: a) 2 solúveis em óleo ¹ b) 2 solúveis em água ²	Métodos de difusão por disco, de micro e macrodiluição e de difusão em ágar; Método DPPH e sistema β -caroteno/ácido linoleico	1) Ácido carnósico* 2) Ácido rosmarínico*	Componentes maioritários: - Ácido carnósico ¹ - Ácido rosmarínico ²	(Klancnik et al., 2009)
Antioxidante	Extractos fluido supercrítico	Avaliação da peroxidação lipídica e óxido nítrico, actividade da catalase, glutatona peroxidase e superóxido dismutase, em vários tecidos de ratos	—————	Extractos a 0.2% e a 0.02% contendo 20% de ácido carnósico	(Posadas et al., 2009)

*Composto não isolado a partir do extracto/produto fornecido por empresa

Estudo de compostos bioactivos e actividades biológicas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Apêndice III

Apêndice III - Exemplos de estudos de *Rosmarinus officinalis* L. reportados entre 2010 e 30 de Novembro de 2014;

Actividade biológica	Extracto 1- Método 2- Solvente	Método de teste da actividade	Compostos isolados	Observações	Referência
Anticancerígeno Anti-inflamatório	Extracto Etanólico 1- Maceração 2- Etanol	Citotoxicidade em linhas de células cancerígenas humanas (HepG2, COLO 205 e HL-60) e avaliação do Óxido Nítrico em células RAW 264.7 de macrófagos	1) Carnosol 2) Ácido carnósico 3) Outros flavonóides e compostos fenólicos	_____	(Bai et al., 2010)
Antibacteriano	Extracto Hidroalcoólico 1- Maceração 2- EtOH/H ₂ O 8:2 (v/v)	Método de microdiluição em caldo: (MIC)	1) Carnosol 2) Ácido carnósico 3) Ácido ursólico 4) Ácido oleanólico	_____	(Bernardes et al., 2010)
Antioxidante	a) Destilação a vapor com aparelho de Clevenger ¹ b) Extracto Metanólico ² 1- Maceração, 4h 2- Metanol 80%	Teste TEAC, avaliação da peroxidação lipídica e anião superóxido, em ratos após intoxicação com tetracloreto de carbono	1) Óleo essencial ¹	Análise GC-MS ¹ : - Eucaliptol (45.8%) - Borneol (16.51%) - α -pineno (6.04%) Análise LC-MS ² : - Carnosol - Ácido carnósico - Ácido rosmarínico	(Botsoglou et al., 2010)
Anticancerígeno Antibacteriano Antioxidante	Hidrodestilação com aparelho de Clevenger (3h)	Ensaio MTT em células cancerígenas da mama e fibroblasto, Método DPPH, Método de difusão por disco e Ensaio <i>Resazurin microtitre-plate</i>	1) Óleo essencial	Análise GC-MS: - 1,8-cineol (38.5%) - Cânfora (17.1%) - α -pineno (12.03%)	(Hussain et al., 2010)
Anticancerígeno	Hidrodestilação com aparelho de Clevenger com posterior: a) Extracção por fluido supercrítico (CO ₂) b) Destilação Soxhlet com metanol	Avaliação da actividade antiproliferativa (Ensaio MTT) em linhas de células cancerígenas humanas	1) Ácido carnósico* 2) Ácido rosmarínico*	_____	(Yesil-Celiktas et al., 2010)
Antibacteriano	Extracto Etanólico (80%)	Método de difusão e microdiluição, e avaliação do efeito sinérgico com cefuroxima, sobre MRSA	_____	_____	(Jarrar et al., 2010)
Anti-inflamatório	3 Extractos fluido supercrítico (CO ₂ / 40°C, 60°C ou 80°C)	Avaliação da peroxidação lipídica, TNF- α , NO, expressão do óxido nítrico sintetase induzível (iNOS) e ciclooxigenase-2 (COX-2) em células RAW 264.7 de macrófagos	1) Ácido carnósico	Análise HPLC: - Ácido carnósico - Verbenona - Carnosol - Cirsimaritina	(Kuo et al., 2011)
Anticancerígeno Gastroprotector	Extracto de Petróleo 1- Destilação 2- Petróleo	Avaliação das lesões gástricas induzidas por EtOH/HCl em ratos e citotoxicidade em diferentes células	1) Ácido carnósico 2) Ácido 12-O-metilcarnósico	Síntese de 17 ésteres e éteres derivados do Ácido carnósico	(Theoduloz et al., 2011)

Estudo de compostos bioactivos e actividades biológicas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Anti-inflamatório	a) Extracto Hidroalcoólico ¹ 1-Maceração 2- Etanol 96% b) Fracção Hexano ² c) Fracção Acetato de Etilo ³	Avaliação dos níveis de Óxido Nítrico (NO), leucócitos, interleucina-1 β (IL-1 β) e factor de necrose tumoral- α (TNF- α) em ratos	1) Carnosol 2) Ácido betulínico 3) Ácido ursólico	Análise HPLC: -Carnosol ^{1,2,3} -Ácido carnósico ¹ -Ácido rosmarínico ¹ -Ácido betulínico ³ -Ácido ursólico ³	(Benincá et al., 2011)
Anti-inflamatório	a) Extracto Hidroalcoólico ¹ 1- Percolação 2- Etanol:Água (70:30) b) Hidrodestilação ² (3h)	Avaliação dos danos no cólon em ratos com colite induzida	1) Óleo essencial ²	Análise GC-MS ² : - α -pineno (39.8%) -1,8-cineol (18.3%) -Cânfora (7.4%)	(Minaiyan et al., 2011)
Antioxidante	a) Hidrodestilação de diferentes partes aéreas da planta b) Fraccionamento (Fracção1 a F4)	Método DPPH, Ensaio de <i>Folin-Ciocalteu</i> , Método Azul da Prússia e Teste TBARS	1) Óleo essencial	Análise GC-MS: - α -pineno -1,8-cineol -Canfeno -Terpenos (F1) -Cetonas (F2) -Álcoois (F3)	(Beretta et al., 2011)
Antibacteriano Antifúngico	Hidrodestilação (3h)	Técnica de microdiluição (para MIC e MBC), citometria de fluxo e microscopia de força atómica	1) Óleo essencial 2) 1,8-Cineol* 3) α -Pineno*	Análise GC-MS: -1,8-cineol (26,5%) - α -pineno (20.1%) -Cânfora (12.9%)	(Jiang et al., 2011)
Anti-inflamatório	Extracto Aquoso Extracto Etanólico	Avaliação da expressão de IL-1 β , TNF- α , COX-1 e COX-2 e infiltração leucocitária em ratos (<i>in vivo</i>) e produção de NO células de macrófagos (<i>in vitro</i>)	1) Ácido carnósico* 2) Carnosol*	_____	(Mengoni et al., 2011)
Anticancerígeno	_____	Ensaio MTT e citometria de fluxo em células do neuroblastoma humano IMR-32	1) Ácido carnósico*	_____	(C.-W. Tsai et al., 2011)
Citoprotector	_____	Ensaio de Alamar Blue e avaliação dos níveis de mRNA e glutatona, em células de hepatoma humano	1) Carnosol* 2) Óleo essencial*	_____	(C. Chen et al., 2011)
Hipocolesterolémico Hipoglicémico	Extracto padronizado para 20% de Ácido carnósico	Avaliação do peso, glucose, colesterol e lipase pancreática em ratos sob dieta rica em gordura	_____	_____	(Ibarra et al., 2011)
Antiespasmódico	Extracto Etanólico 1-Maceração 2- Etanol	Avaliação da actividade em fêcos de porcos-da-guiné induzidos por KCl, acetilcolina e estímulo eléctrico	_____	_____	(Ventura-Martínez et al., 2011)
Anticancerígeno	Extracto Acetona 1- Maceração 2- Acetona	Avaliação da proliferação e distribuição do ciclo celular em células do cancro da mama	1) Ácido carnósico	Análise HPLC: -Ácido carnósico (48%) - Ácido12-O-metilcarnósico (8%) -Carnosol (3%)	(Einbond et al., 2012)
Antidepressivo	Extracto Hidroalcoólico 1- Maceração 2- Etanol 96%	Teste de suspensão da cauda, teste de natação forçada e teste de campo aberto em ratos	1) Ácido ursólico	_____	(D G Machado et al., 2012)
Analgésico	Extracto de Acetato de Etilo 1- Maceração 2- Acetato de Etilo	Avaliação da antinocicepção pelo Teste de <i>Writhing</i> induzido por ácido acético, em ratos	1) Ácido micromérico 2) Ácido oleanólico 3) Ácido ursólico	_____	(Ana Laura Martínez et al., 2012)
Antidislipidémico	Extracto Etanólico 1- Maceração 2- Etanol 96%	Avaliação de parâmetros bioquímicos (triglicéridos, colesterol, e insulina) e Lipase pancreática em ratos	1) Ácido carnósico 2) Carnosol	Análise HPLC-DAD-MS/MS: -Ácido carnósico (38.9%) -Carnosol (6.56%) -Metilcarnosato (6.96%)	(Romo Vaquero et al., 2012)

Estudo de compostos bioactivos e actividades biológicas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Antibacteriano Anticancerígeno	Hidrodestilação	Método de microdiluição em caldo: (MIC e MBC); Ensaio MTT em três células cancerígenas humanas	1) Óleo essencial 2) 1,8-Cineol* 3) α -pineno* 4) β -pineno*	Compostos maioritários: -1,8-cineol (27.23%) - α -pineno (19.43%) -Cânfora (14.26%)	(W. Wang et al., 2012)
Anticancerígeno	Extracto Aquoso ¹ 1- 2h a 98°C 2- Água Extracto Etanólico ² 1- 22°C 2- EtOH 70%	Avaliação da proliferação e progressão do ciclo celular em células de cancro do ovário humano	1) Ácido carnósico* 2) Carnosol* 3) Ácido rosmarínico*	Análise HPLC: -Ácido rosmarínico ^{1 e 2} -Ácido carnósico ² -Carnosol ²	(Tai et al., 2012)
Anti-inflamatório	Extracto Metanólico e fraccionamento com n-hexano 1-Maceração, 24h 2- Metanol 80%	Ensaio de migração celular e determinação das proteínas MPC-1 e MMP-9 em células de macrófagos e músculo vascular liso	1) Ácido carnósico* 2) Carnosol*	Análise HPLC (extracto e fracção): -Ácido carnósico -Ácido rosmarínico	(Chae et al., 2012)
Anticancerígeno	Extracto Etanólico (etanol 96%)	Ensaio de viabilidade celular, Ensaio de adesão e migração e extracção de RNA em linhas de células do cancro colorectal	1) Ácido carnósico* 2) Ácido rosmarínico*	Análise HPLC: -Ácido carnósico -Ácido rosmarínico	(Barni et al., 2012)
Antioxidante Anticancerígeno	3 Tipos de extractos (oleosolúveis)*: a) VivOX 20 ¹ b) VivOX 40 ² c) Inolens 50 ³	Método DPPH e avaliação do anião superóxido; Actividade antiproliferativa (Ensaio SRB) em células tumorais humanas	1) Ácido rosmarínico*	-Ácido carnósico (25.9%) ¹ ; (36.2%) ² ; (42.2%) ³ -Carnosol (2.6%) ¹ ; (4.4%) ² ; (7.3%) ³ -Metilcarnosol (0.72%) ¹ ; (3.4%) ² ; (1.8%) ³	(Dilas et al., 2012)
Colinérgico	_____	Avaliação da diferenciação celular, acetilcolinesterase, colina e acetilcolina em células PC12	1) Luteonina*	_____	(El Omri, Han, Kawada, et al., 2012)
Antioxidante Antibacteriano	27 Extractos Metanólicos a partir de folhas hidrodestiladas 1- Destilação Soxhlet, 2h 2- Metanol	Métodos FRAP, ABTS, DPPH e Método de difusão por disco	_____	Extractos agrupados tendo em conta o rácio ácido carnósico/carnosol (40:60; 50:50; e 40:60)	(Jordán et al., 2012)
Antidepressivo	Extracto Hidroalcoólico 1-Maceração 2- Etanol 96%	Teste <i>Splash</i> , <i>Open-field</i> , <i>Novel object</i> e <i>Novel cage</i> em ratos submetidos a uma bulbectomia olfatória (depressão induzida)	_____	Análise HPLC: -Ácido ursólico (15.71%) -Carnosol (10.03%)	(Daniele G Machado et al., 2012)
Antidepressivo	Extracto Hidroalcoólico 1- Maceração 2- Etanol 96%	Teste do campo aberto e Teste de suspensão da cauda	1) Carnosol 2) Ácido betulínico	_____	(Daniele G Machado et al., 2013)
Anti-inflamatório	a) Extracto Etanólico após hidrodestilação ¹ 1- Maceração (22-25°C) 2- Etanol 96% b) Fracções - Hexano ² - Acetato de etilo ³ - Etanólica ⁴	Avaliação dos níveis de NO, leucócitos, neutrófilos, IL-17A e IL-10 em ratos	1) Carnosol 2) Ácido rosmarínico	-Carnosol (18.7%) ¹ ; (18%) ² ; (19.3%) ³ -Ácido rosmarínico (6.3%) ¹	(da Rosa et al., 2013)
Antivírico	Extracto Etanólico 1- Maceração 2- Etanol 70%	Avaliação da replicação do vírus sincicial respiratório humano (hRSV) por ensaio de microneutralização e por placa e da síntese de RNA viral	1) Ácido carnósico 2) Ácido rosmarínico 3) Ácido ursólico 4) Ácido oleanólico 5) Ácido betulínico	Compostos isolados da fracção acetato de etilo obtida a partir do extracto etanólico	(H.-B. Shin et al., 2013)

Estudo de compostos bioactivos e actividades biológicas do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.)

Anti-inflamatório	a) Extracto Metanólico ¹ 1- 24h, T _{ambiente} 2- Metanol 80% b) Fracção hexano ²	Avaliação dos níveis de óxido nítrico, prostaglandina E ₂ , TNF- α , COX-2, MAPKs, em células de macrófagos	1) Carnosol 2) 4'-metoxitectoicrina 3) Ácido carnósico*	Análise HPLC: -Ácido carnósico (9.3%) ¹ ; (18.4%) ² -Carnosol (3.7%) ¹ ; (2.5%) ²	(M.-H. Yu et al., 2013)
Anti-inflamatório Analgésico	Extracto Hidroalcoólico 1- Maceração 2- Água/Etanol (1:1)	Avaliação da dor, analgesia, COX-1, COX-2 e corticosterona, em ratos com dor e inflamação induzida	1) Carnosol*	_____	(Emami et al., 2013)
Antidepressivo	Extracto Etanólico (etanol 70%)	Teste da cauda em suspensão e avaliação da norepinefrina, dopamina, serotonina, colina e acetilcolina em ratos, e tirosina hidroxilase em células PC12	1) Ácido rosmarínico* 2) Ácido carnósico* 3) Luteolina*	Análise HPLC: -Ácido rosmarínico (4%) -Ácido carnósico (1.3%)	(Sasaki et al., 2013)
Anti-inflamatório	Extracto Etanólico 1- Temperatura ambiente, 4h	Avaliação de citocinas, edema na orelha e factor nuclear kappa-B, em células THP-1 e ratos com inflamação induzida por <i>Propionibacterium acnes</i>	1) Carnosol* 2) Ácido carnósico* 3) Ácido rosmarínico*	Análise HPLC: -Ácido rosmarínico -Ácido carnósico -Carnosol	(T.-H. Tsai et al., 2013)
Anti-inflamatório Analgésico	Extracto Aquoso 1- Digestão 80°, 2h 2- Água	Avaliação do edema induzido em ratos; Teste da Formalina e Constrição abdominal	1) Ácido rosmarínico 2) Éster derivado do ácido rosmarínico	_____	(Lucarini et al., 2013)
Anticancerígeno	Extracto fluido supercrítico (CO ₂)	Ensaio MTT, citometria de fluxo e avaliação da resistência ao 5-Fluoracilo em células cancerígenas do colon	_____	Compostos maioritários: -Ácido carnósico (19.56%) -Carnosol (1.90%) -Óleo volátil (15.52%)	(González-Vallinas et al., 2013)
Antioxidante Anticancerígeno	Extractos fluido supercrítico (CO ₂) em diferentes condições de extração	Método DPPH; Ensaio MTT em células de carcinoma hepático humano	_____	Compostos maioritários: -Ácido carnósico -1,8-cineol -Cânfora	(Vicente et al., 2013)
Antidiabético	Extracto Metanólico	Ensaio de consumo de glicose, avaliação do glicogénio e Ensaio de glicólise em células HepG2	_____	Análise GC-MS: -Ácido carnósico -Ácido ursólico -Ácido oleanólico	(Tu et al., 2013)
Antioxidante Anticancerígeno	Extracto Acetato de etilo 1- Aparelho Soxhlet (6h para cada solvente)	Método DPPH; Ensaio MTT, produção de óxido nítrico e TNF- α , em células cancerígenas de rato	_____	Compostos maioritários: -Ácido carnósico -Ácido ursólico	(Kontogianni et al., 2013)
Antioxidante Hepatoprotector	Hidrodestilação	Método DPPH; Avaliação da peroxidação lipídica hepática, glutatona redutase e oxidase, CAT, em ratos Wistar induzidos com CCl ₄	1) Óleo essencial	Análise GC-FID/GC-MS: -1,8-cineol (43.77%) -Cânfora (12.53%) - α -pineno (11.51%)	(Rašković et al., 2014)
Genoprotector	a) Extracto Etanólico 1- Maceração com etanol 80% b) Extracto Aquoso	Avaliação dos danos oxidativos no DNA de linfócitos humanos induzidos com H ₂ O ₂	_____	Não se verificou actividade com o extracto aquoso	(Razavi-Azarkhiavi et al., 2014)
Anticancerígeno	Extractos fluido supercrítico (CO ₂ , 40°) em diferentes condições	Ensaio MTT em células cancerígenas do cólon e pâncreas, expressão genética e RNAm, e avaliação da tumorigenicidade em ratos	1) Carnosol* 2) Ácido carnósico*	Análise HPLC: -Carnosol (1 a 3%) -Ácido carnósico (10 a 30%)	(González-Vallinas, Molina, Vicente, Zarza, et al., 2014)

*Composto não isolado a partir do extracto/produto fornecido por empresa