



GENOTOXICIDADE, CAPACIDADE PROLIFERATIVA E ANÁLISE FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS AQUOSOS DE *Origanum majorana* L.

*GENOTOXICITY, PROLIFERATIVE CAPACITY AND PHYTOCHEMICAL ANALYSIS OF AQUEOUS EXTRACTS OF *Origanum majorana* L.*

Micheli Bortoluzzi Baldoni

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Brasil
Orcid: <https://orcid.org/0009-0005-5128-2655>
E-mail: michelibaldoni@gmail.com

Marina Pasqualli

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Brasil
Orcid: <https://orcid.org/000-0001-5793-0194>
E-mail: pasqualli.marina@gmail.com

Marli Makito Anraku de Campos

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Brasil
Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-9851-7793>
E-mail: marlimatiko@yahoo.com

Fernando Sintra Fulaneti

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Brasil
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-6074-7873>
E-mail: fernando.sintrafulaneti@gmail.com

Matheus Martins Ferreira

Centro Universitário Faema – UNIFAEMA, Brasil
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-4555-7852>
E-mail: math.ferreira10@yahoo.com.br

Solange Bosio Tedesco

Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Brasil
Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-9673-1996>
E-mail: solatedesco@gmail.com

Submetido: 4 jun. 2023.

Aprovado: 7 ago. 2023.

Publicado: 15 ago. 2023.

E-mail para correspondência:
fernando.sintrafulaneti@gmail.com

Resumo: O presente trabalho teve como objetivos analisar a genotoxicidade e a capacidade proliferativa dos extratos aquosos das folhas de manjerona sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L., além de verificar a composição fitoquímica através de cromatografia. A avaliação da genotoxicidade e da atividade proliferativa, através do teste de *Allium cepa*, foi conduzida em laboratório mediante delineamento inteiramente casualizado com 6 grupos de bulbos em 5 repetições. Os tratamentos foram constituídos de água destilada, glifosato 2%, infusão das folhas de manjerona com concentrações de 6 e 12 g L⁻¹. Esses tratamentos foram divididos, tendo como base dois métodos de secagem de folhas: em temperatura ambiente (natural) à sombra e em forno micro-ondas, a fim de comparar a composição fitoquímica dos extratos aquosos. Para a análise genotóxica e da capacidade proliferativa, foram preparadas lâminas por meio da técnica de esmagamento da região meristemática da raiz e coloração com orceína acética 2%, possibilitando a observação das diferentes fases da divisão mitótica durante o ciclo celular. Os resultados obtidos através do teste de *Allium cepa* demonstram que os tratamentos com as infusões de manjerona possuem efeito antiproliferativo e genotóxico. A análise cromatográfica indicou que os componentes majoritários dos extratos aquosos foram o ácido clorogênico, o ácido rosmarinico e o ácido gálico.

Palavras-chave: Manjerona. Métodos de secagem. *Allium cepa* L.



Abstract: The present work aimed to analyze the genotoxicity and proliferative capacity of aqueous extracts of marjoram leaves on the cell cycle of *Allium cepa* L., in addition to verifying the phytochemical composition through chromatography. The evaluation of genotoxicity and proliferative activity, using the *Allium cepa* test, was carried out in the laboratory using a completely randomized design with 6 groups of bulbs in 5 repetitions. The treatments consisted of distilled water, 2% glyphosate, infusion of marjoram leaves with concentrations of 6 and 12 g L⁻¹. These treatments were divided, based on two methods of leaf drying: at room temperature (natural) in the shade and in a microwave oven, in order to compare the phytochemical composition of the aqueous extracts. For the genotoxic analysis and the proliferative capacity, slides were prepared using the technique of crushing the meristematic region of the root and staining with 2% acetic orcein, allowing the observation of the different phases of mitotic division during the cell cycle. The results obtained through the *Allium cepa* test demonstrate that treatments with marjoram infusions have an antiproliferative and genotoxic effect. The chromatographic analysis indicated that the major components of the aqueous extracts were chlorogenic acid, rosmarinic acid and gallic acid.

Keywords: Marjoram. Drying methods. *Allium cepa* L.

Introdução

As plantas medicinais, ao longo da história, sempre estiveram presentes no tratamento e na cura de doenças. Essa prática é favorecida no Brasil devido à grande biodiversidade existente no país ⁽¹⁾. Ademais, aliada a essa biodiversidade, tem-se a diversidade étnica e cultural, trazendo conhecimento tradicional associado ao uso de plantas medicinais, o que favorece o desenvolvimento de pesquisas resultantes em tecnologias que permitem a melhoria de vida da população ⁽¹⁾.

Considerando as plantas utilizadas na medicina popular, destacam-se as do gênero *Origanum*, que é conhecido pelas suas propriedades medicinais e condimentares. São representantes desse gênero o orégano (*Origanum vulgare* L.) e a manjerona (*Origanum majorana* L.) ⁽²⁾, sendo esta segunda espécie o foco principal deste estudo. A manjerona pertence à família Lamiaceae, é uma planta perene e pode alcançar até 60 cm de altura. Suas propriedades mais conhecidas são a antimicrobiana, antioxidante e inseticida ⁽³⁾, sedante, diurética, antiviral, estimulante e digestiva. Na alimentação, é usada como conservante e antimicrobiano na indústria de carne ⁽⁴⁾.

O aumento do interesse da população nacional por terapias alternativas e produtos naturais, favoreceu o crescimento do mercado de plantas medicinais e aromáticas de forma expressiva ⁽⁵⁾. Nesse contexto, deve-se optar pela produção de produtos de qualidade que contenham os compostos desejados. Para isso, deve-se atentar para o fato de os princípios



ativos das plantas poderem ser influenciados por fatores climáticos (temperatura, umidade, altitude, latitude) ⁽⁶⁾, colheita, secagem, transporte e armazenamento. Dentre esses fatores, cabe ressaltar que o método de secagem de plantas medicinais é um processo crucial, tendo como objetivo retirar a água da planta, reduzindo assim os teores de umidade para melhorar a capacidade de conservação e durabilidade, mantendo suas qualidades físicas e químicas por mais tempo ⁽⁷⁾.

Pelo uso, muitas vezes, indiscriminado dessas plantas, a medicina convencional vem identificando crescentes problemas relacionados a efeitos colaterais negativos como alergias e intoxicação. A ideia equivocada de que as plantas medicinais – por serem naturais – não oferecem riscos de efeitos colaterais deve ser repensada. Apesar de algumas plantas representarem fontes de medicamentos eficazes, o risco de intoxicação causado pelo uso indiscriminado deve ser sempre levado em consideração ⁽⁸⁾. Com isso, para a utilização consciente e segura das plantas medicinais, são necessários estudos complementares que avaliem o potencial genotóxico e citotóxico das substâncias que essas plantas produzem. As referidas avaliações podem ser feitas com base no emprego de organismos bioindicadores, haja vista que auxiliam na identificação de possíveis alterações celulares e cromossômicas decorrentes do uso de algumas espécies medicinais pela população ⁽⁹⁾. Um dos organismos teste utilizado é o *Allium cepa* – conhecido popularmente como cebola – o qual serve como bioindicador de genotoxicidade de extratos e óleos de plantas ⁽¹⁰⁾ e permite determinar a capacidade de proliferação celular.

Convém pontuar que o teste de *Allium cepa* L. é considerado um método direto que pode ser utilizado para medir os danos nos sistemas que estão expostos a agentes mutagênicos ou potenciais agentes cancerígenos, possibilitando a avaliação desses danos por meio da observação de alterações cromossômicas ⁽¹¹⁾. Frente ao exposto até o momento, o presente estudo justifica-se pela necessidade de produção de mais conhecimento sobre a genotoxicidade e a capacidade proliferativa dos extratos aquosos e do óleo da manjerona, visto que essa planta tem sido muito utilizada com fins terapêuticos para o tratamento de doenças humanas na medicina alternativa, além de ter um alto consumo culinário.

Com isso, este estudo tem por objetivos: avaliar a genotoxicidade e atividade proliferativa dos extratos aquosos de manjerona sobre ciclo celular de *A. cepa*; e verificar a composição fitoquímica destes extratos aquosos através de cromatografia.



Metodologia

A primeira parte do experimento foi conduzido a campo em uma propriedade rural no município de Formigueiro, RS (S 29°59'46,96" W 53°36'10,23"), distante 45 km de Santa Maria, RS, cidade em que está localizada a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Mudanças de manjerona foram adquiridas de um produtor comercial na região de Santa Maria, as quais eram uniformes com aproximadamente 10 cm de altura e cultivadas durante 60 dias em canteiros, com espaçamento de 20 cm x 20 cm, sem irrigação artificial.

Decorrido o período de 60 dias de cultivo das plantas em campo, estas foram coletadas para obtenção das amostras de folhas. O material foi coletado e levado ao Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade (LabCitoGen) – UFSM e, então, destinado à secagem, feita através de dois métodos: em forno micro-ondas e secagem natural. Na secagem em forno micro-ondas, o material vegetal foi colocado sobre papel filtro e levado ao forno com 1200 Watts de potência até atingir um peso constante (aproximadamente 3 minutos). Para a secagem ao natural, o material vegetal foi colocado em uma bandeja plástica forrada com papel toalha, permanecendo em bancada com temperatura média de 25° C, durante 6 dias.

Depois de secas, as folhas de manjerona foram utilizadas para o preparo dos extratos aquosos que serviram para realizar o teste de genotoxicidade, capacidade proliferativa e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

As concentrações utilizadas para o preparo dos extratos aquosos foram 6g e 12g de massa seca de manjerona em 1L de água destilada, por meio de infusão por 10 minutos. Em seguida, os extratos foram coados e resfriados à temperatura ambiente. Uma parte foi utilizada como tratamentos nos bulbos de *Allium cepa* e outra parte foi encaminhada para o Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia Industrial do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFSM, para a realização da CLAE.

No LabCitoGen, os bulbos de cebola nacional comercial adquiridos em um mercado do município de Santa Maria, foram colocados para enraizar em água destilada durante 72 horas. Após o enraizamento, foram formados 6 grupos (tratamento), cada um com 5 bulbos (repetições) para serem submetidos aos tratamentos por um período de 24 horas. O tecido meristemático das radículas de *Allium cepa* foi utilizado para a avaliação das alterações morfológicas e estruturais celulares e também para determinar os índices mitóticos. Os tratamentos estão dispostos a seguir na (tabela 1).



Tabela 1. Os experimentos possuem estes tratamentos com extratos aquosos das folhas de *Origanum majorana* L. Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade (LabCitoGen) – UFSM, Santa Maria (RS), 2016.

Nº	Tratamentos
T1	Controle negativo em água destilada.
T2	Glifosato 2% controle positivo.
T3	Extrato aquoso de folhas de manjerona por infusão de 6 g.L ⁻¹ com secagem em micro-ondas.
T4	Extrato aquoso de folhas de manjerona por infusão de 12 g.L ⁻¹ com secagem em micro-ondas.
T5	Extrato aquoso de folhas de manjerona por infusão de 6 g.L ⁻¹ com secagem natural.
T6	Extrato aquoso de folhas de manjerona por infusão de 12 g.L ⁻¹ com secagem natural.

Fonte: Dos autores (2016).

Decorrido o tempo de tratamento, as raízes foram coletadas e fixadas em etanol: ácido acético (3:1) por 24 horas e, posteriormente, armazenadas sob refrigeração em etanol 70% até sua utilização para confecção das lâminas.

Na etapa seguinte, para o preparo das lâminas, foram coletadas radículas com aproximadamente 5 mm, as quais foram hidrolisadas em HCl 1N por 5 minutos e, após lavadas em água destilada, para serem utilizadas na análise da divisão celular das raízes dos bulbos de cebola imersas nos tratamentos com os extratos aquosos e nos tratamentos controle (água, glifosato).

A região meristemática foi esmagada com auxílio de um pequeno bastão de vidro, na sequência, foi aplicada uma gota do coranteorceína acética 2% adaptada⁽¹²⁾ sobre o material, seguida da colocação de lamínula. As lâminas foram observadas ao microscópio com o aumento de 40X e, então, analisadas. No microscópio, foi feita a contagem total de células em divisão e calculado o índice mitótico (IM), baseando-se na porcentagem de células em divisão. Na análise das lâminas, foram contadas 1000 células por bulbo, totalizando 5000 células por grupo de bulbos para cada um dos 6 tratamentos. O índice mitótico pode ser obtido pela divisão do número de células em divisões pelo número total de células observadas multiplicado por 100, obtendo-se o valor do IM em %.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foi empregada para determinação dos 'compostos fenólicos/flavonóides' presentes nos extratos/infusões das folhas de *Origanum majorana* e sua análise foi realizada no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia Industrial do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFSM.



Produtos químicos, aparelhos e procedimentos gerais

Todos os produtos químicos utilizados foram de grau analítico. Metanol, ácido acético, ácido gálico, ácido rosmarínico, ácido clorogênico e ácido cafeico foram obtidos da Merk (Darmstadt, Germany). Quercetina, rutina, apigenina e luteolina foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). A cromatografia Líquida de Alta Eficiência foi realizada com um Sistema CLAE (Shimadzu, Kyoto, Japão) Shimadzu Prominence Auto Sampler (SIL-20A), equipado com bombas alternativas Shimadzu LC-20AT, conectadas a um degaseificador DGU 20A5 com integrador CBM 20A, diodo detector em série SPD-M20A e software LC solution 1.22 SP1.

Quantificação dos compostos através da CLAE

Amostras de manjerona nas concentrações de 6 g.L⁻¹ e 12 g.L⁻¹ foram injetadas por meio de um modelo SIL-20A da Shimadzu Autosampler. As separações foram realizadas por meio de uma coluna Phenomenex C₁₈ (4.6 mm x 250 mm x 5 µm tamanho de partícula). A fase móvel constitui-se de água com ácido fórmico a 1% (v/v) (solvente A) e metanol (solvente B), com quociente de vazão de 0,6 mL.min⁻¹ e volume de injeção de 40 µL. A composição do gradiente foi: 5% de solvente que rompe a 15% em 10 min; 30% de solvente B em 25 min, 65% de solvente B em 40 min e 98% de solvente B em 45 minutos, seguido de 50 min à eluição isocrática até 55 min. Decorridos 60 minutos, o gradiente alcançou as condições iniciais de novo, seguindo o método descrito por Duarte ⁽¹³⁾, com ligeiras modificações. As amostras e a fase móvel foram filtradas através de filtro de 0,45µm de membrana (Millipore) e, em seguida, degaseificou-se por banho de ultrassons antes da utilização. As soluções de reserva de referências padrões foram preparadas no metanol: água (1: 1, v/v) numa gama de concentrações de 0,025-0,500 mg.mL⁻¹. Quantificações foram realizadas por integração dos picos, utilizando o método do padrão externo a 257 nm para o ácido gálico; 325 nm para o ácido caféico, ácido rosmarínico e ácido clorogênico; e 366 para a rutina, apigenina, quercetina e luteolina. Todas as operações de cromatografia foram realizadas à temperatura ambiente e em triplicata.

O delineamento experimental utilizado no experimento foi o inteiramente casualizado (DIC). Os resultados obtidos pelo teste de *Allium cepa* foram avaliados pelo teste Qui-quadrado (χ^2), através do software BioEstat versão 5.3 ⁽¹⁴⁾, com margem de erro de 5%. Os



resultados obtidos pela Cromatografia Líquida de Alta Eficiência foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey com 5% de probabilidade de erro, mediante uso de software estatístico SISVAR ⁽¹⁵⁾.

Resultados e Discussões

Para analisar a capacidade proliferativa dos extratos aquosos de manjerona, foi observado o ciclo celular no sistema teste in vivo de *Allium cepa* e os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 2, logo adiante, na qual são apresentados o número total de células analisadas, células em interfase, em divisão e o respectivo índice mitótico de cada tratamento. Com base no índice mitótico (IM) (Tabela 2), observa-se que o controle negativo (T1) foi diferente de todos os outros tratamentos, percebendo-se uma redução significativa da proliferação celular de *A. cepa* em todos os tratamentos testados.

Tabela 2 – Número de células meristemáticas de *Allium cepa* L. analisadas em interfase, em divisão e os índices mitóticos (IM) dos controles e tratamentos com extratos aquosos das folhas de *Origanum majorana* L. no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade (LabCitoGen) – UFSM, Santa Maria (RS), 2016.

Tratamentos	Total de células analisadas	Células em interfase	Células em divisão	Índice Mitótico (%)
T1 – Água destilada (controle negativo)	5000	4292	708	14,16 a*
T2 – Glifosato 2% (controle positivo)	5000	4959	41	0,82 e
T3 – Extrato aquoso 6 g.L ⁻¹ /secagem em micro-ondas	5000	4662	338	6,76 b
T4 – Extrato aquoso 12 g.L ⁻¹ /secagem em micro-ondas	5000	4792	208	4,16 c
T5 – Extrato aquoso 6 g.L ⁻¹ /secagem natural	5000	4870	130	2,60 d
T6 – Extrato aquoso 12 g.L ⁻¹ /secagem em natural	5000	4962	38	0,76 ef

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste χ^2 em nível de 5% de significância.

Fonte: Dos autores (2016).

Quando os distintos tratamentos foram comparados com controle positivo, apenas o T6 (IM = 0,76) apresentou IM inferior ao encontrado no T2 (IM = 0,82). O tratamento T6 não diferiu do controle positivo (T2), sendo o valor do χ^2 para a comparação: T2 x T6 = 0,115. Revelaram diferenças significativas, quando comparadas ao controle positivo, os tratamentos T1 (IM = 14,16), T3 (IM = 6,76), T4 (IM = 4,16), T5 (IM = 2,60), com valores χ^2 para as comparações: T1 x T2 = 642,068; T2 x T3 = 241,910; T2 x T4 = 114,864; T2 x T5 = 47,128 (Tabela 2).



Ainda, considerando os resultados demonstrados na Tabela 1, a concentração de 6 g.L⁻¹, T3 (IM = 6,76) e T5 (IM = 2,60), nos diferentes métodos de secagem, e a comparação T3 x T5 com valor do $\chi^2 = 96,983$ indicam que houve diferença significativa entre os tratamentos. Na concentração de 12 g.L⁻¹, os tratamentos T4 e T6 tiveram seus índices mitóticos 4,16 e 0,76, respectivamente, diferença entre si, com valor de χ^2 para a comparação T4 x T6 = 120,443.

Os resultados da avaliação dos extratos aquosos de manjerona sobre o ciclo celular de *Allium cepa* demonstraram que houve uma redução significativa no índice mitótico em todos os tratamentos aplicados, isto é, a divisão celular diminuiu quando submetidos aos tratamentos em relação com o controle negativo (água destilada), demonstrando a capacidade antiproliferativa dos extratos aquosos das folhas secas de manjerona em ambas as concentrações e métodos de secagem. Ademais, na Tabela 2, pode-se observar que os valores dos índices mitóticos decresceram de 14,16% (controle negativo) para 6,76% na concentração de 6g/L com secagem em micro-ondas até 2,60% na mesma concentração, porém com secagem natural. Resultados semelhantes que demonstraram capacidade antiproliferativa de extratos medicinais foram encontrados por Tedesco ⁽¹¹⁾ que, ao analisar as infusões de *Mentha pulegium*, observou a ação antiproliferativa desses extratos de Rodrigues ⁽¹⁶⁾, o qual, por sua vez, em estudo dos extratos aquosos de preparados a partir das folhas, casca e raízes de *Myrocarpus frondosus* nas concentrações de 2,5 g.L⁻¹ e 5 g.L⁻¹, verificou o efeito antiproliferativo.

A maior redução da divisão celular ocorreu nos extratos preparados com folhas submetidas à secagem natural, em que os IM diminuíram em relação ao controle negativo (água destilada). Já na concentração de 12 g.L⁻¹ do controle positivo, foi verificada maior capacidade antiproliferativa (Tabela 2).

Outros autores também utilizaram o sistema teste *A. cepa* para analisar a capacidade antiproliferativa de extratos aquosos de algumas espécies. Nesse viés, Pastori et al. ⁽¹⁷⁾ verificou a atividade antiproliferativa das infusões de *Polygonum punctatum* E. nas concentrações de 0,4 g.mL⁻¹ e 2,4 g.mL⁻¹. Já Pasqualli; Tedesco ⁽¹⁸⁾ constataram que os extratos aquosos das folhas secas e in natura preparados por infusão e os extratos crus das folhas in natura de *Allophylus edulis* (A.St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk possuem potencial antiproliferativo sobre o ciclo celular de *A. cepa*.



Genotoxicidade dos extratos aquosos e do óleo de *Origanum majorana*

A genotoxicidade foi observada através do teste in vivo de *Allium cepa*, a partir do qual se obteve os resultados observados na Tabela 3, em que são apresentados o número total de células analisadas, células em interfase, em divisão e o número de alterações cromossômicas. De acordo com esses resultados, todos os tratamentos (T3, T4, T5 e T6 com 6, 5, 4, 2 alterações, respectivamente) diferiram estatisticamente do controle negativo (T1), o qual não revelou nenhuma alteração cromossômica, com valores de χ^2 para as comparações: T1 x T3 = 125,027, T1 x T4 = 256,016, T1 x T5 = 373,326, T1 x T6 = 564,406. O tratamento T6 não diferiu do controle positivo (T2), sendo o valor de χ^2 : T2 x T6 = 3,706 (Tabela 3).

Tabela 3 – Número de células meristemáticas de *Allium cepa* L. analisadas em interfase, em divisão e as alterações cromossômicas dos controles e tratamentos com extratos aquosos das folhas de *Origanum majorana* L. no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade (LabCitoGen) – UFSM, Santa Maria (RS), 2016.

Tratamentos	Total de células analisadas	Células em interfase	Células em divisão	Número de alterações
T1 – Água destilada (controle negativo)	5000	4292	708	0 f
T2 – Glifosato 2% (controle positivo)	5000	4959	41	8 a*
T3 – Extrato aquoso 6 g.L ⁻¹ / secagem em micro-ondas	5000	4662	338	6 b
T4 – Extrato aquoso 12 g.L ⁻¹ / secagem em micro-ondas	5000	4792	208	5 c
T5 – Extrato aquoso 6 g.L ⁻¹ / secagem natural	5000	4870	130	4 d
T6 – Extrato aquoso 12 g.L ⁻¹ / secagem em natural	5000	4962	38	2 ae

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey em nível de 5% de significância. Na coluna, as letras maiúsculas referem-se ao desdobramento de cada componente dentro do tratamento.

Fonte: Dos autores (2016).

As células analisadas em T3 (6 alterações) e T4 (5 alterações) que foram expostas aos extratos aquosos das folhas de manjerona secas em micro-ondas nas concentrações 6 g.L⁻¹ e 12 g.L⁻¹ diferiram entre si (χ^2 : T3 x T4 = 29,422). Já os tratamentos com secagem natural nas concentrações 6 g.L⁻¹ (T5) e 12 g.L⁻¹ (T6) com 4 e 2 alterações, respectivamente, tiveram diferença quanto ao número de alterações observadas (χ^2 : T5 x T6 = 50,183) (Tabela 3).

Na comparação dos métodos de secagem, é possível observar que nos tratamentos T5 (4 alterações) e T6 (2 alterações) as folhas que foram secas naturalmente têm menor potencial genotóxico que nos tratamentos T3 (6 alterações) e T4 (5 alterações), pois pode-se observar que o número de divisões observadas foi menor nos tratamentos T5 e T6.



A avaliação da genotoxicidade dos extratos aquosos de manjerona pelo teste de *A. cepa* demonstrou que esses extratos possuem efeito genotóxico em comparação ao controle negativo (água destilada). Resultados semelhantes foram encontrados por Dias et al. ⁽¹⁹⁾, que ao analisar as infusões de *Mikania cordifolia*, nas concentrações 8 g.L⁻¹ e 32 g.L⁻¹, concluíram que estas infusões possuem efeito genotóxico sobre o ciclo celular de *A. cepa*.

Ainda, algumas espécies como *Prunus myrtifolia* (L.) Urb. ⁽²⁰⁾, *Phyllanthus amarus* ⁽²¹⁾, *Paullinia cupana* ⁽²²⁾ e *Eugenia uniflora* L. ⁽¹⁰⁾ também tiveram seus efeitos genotóxicos comprovados pelo teste de *Allium cepa*.

Cromatografia Líquida de Alta eficiência (CLAE)

A análise de CLAE detectou a presença de compostos fenólicos como flavonoides e ácidos fenólicos nos extratos aquosos de manjerona em ambos os tratamentos (T1 - Controle negativo em água destilada; T2 - Glifosato 2% controle positivo; T3 - Extrato aquoso de folhas de manjerona por infusão de 6 g.L⁻¹ com secagem em micro-ondas; T4 - Extrato aquoso de folhas de manjerona por infusão de 12 g.L⁻¹ com secagem em micro-ondas; T5 - Extrato aquoso de folhas de manjerona por infusão de 6 g.L⁻¹ com secagem natural; T6 - Extrato aquoso de folhas de manjerona por infusão de 12 g.L⁻¹ com secagem natural).

Estudos demonstram a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos, auxiliando na prevenção de doenças cardiovasculares, cancerígenas e neurológicas ^(23,24).

Na Tabela 4, pode-se observar os compostos fenólicos presentes nos extratos aquosos de manjerona em duas concentrações e dois métodos de secagem obtidos através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Além disso, mediante tal tabela, pode-se observar que o componente majoritário presente nos extratos aquosos de manjerona em todos os tratamentos é o ácido clorogênico, diferindo apenas o componente secundário, que nos tratamentos T3, T4 é o ácido rosmarínico com 3,03 mg.g⁻¹ (T3) e 6,03 mg.g⁻¹ (T4) e nos tratamentos T5 e T6, é o ácido gálico com 2,29 mg.g⁻¹ e 4,99 mg.g⁻¹, respectivamente. Verifica-se, também que alguns compostos fenólicos diferiram em quantidade, conforme o método de secagem das folhas, sendo que, na Tabela 3, o ácido gálico aumentou de 1,28 para 2,29 na concentração de 6 g.L⁻¹ e de 2,41 para 4,99 na concentração 12g.L⁻¹, respectivamente nos métodos de secagem, micro-ondas e natural.



Tabela 4 – Compostos fenólicos presentes nos extratos aquosos das folhas de *Origanum majorana* L. cultivadas em campo, secagem em micro-ondas e natural e em duas concentrações, obtidos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade (LabCitoGen) – UFSM, Santa Maria (RS), 2016

Componentes (mg.g ⁻¹)	Tratamentos			
	T3 – 6 g.L ⁻¹ / micro-ondas	T4 – 12 g.L ⁻¹ / micro-ondas	T5 – 6 g.L ⁻¹ / natural	T6 – 12 g.L ⁻¹ / natural
Ác. Gálico	1,28 c	2,41 cd	2,29 b	4,99 b
Ác. Clorogênico	4,20 a	8,25 a	4,49 a	9,35 a
Ác. Cafeíco	1,18 c	2,34 d	1,72 c	3,03 d
Ác. Rosmarínico	3,03 b	6,08 b	2,21 b	4,11 c
Rutina	0,37 f	0,56 g	0,20 e	0,46 f
Quercitina	0,50 e	0,71 f	0,53 d	1,06 e
Luteolina	0,70 d	1,12 e	0,49 d	1,05 e
Apigenina	1,19 c	2,48 c	0,45 d	1,04 e

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey em nível de 5% de significância. Na coluna, as letras maiúsculas referem-se ao desdobramento de cada componente dentro do tratamento.

Fonte: Dos autores (2016).

A alta concentração de alguns compostos químicos presentes nos extratos de plantas pode ter efeitos inibitórios ou estimulantes, sobre o ciclo celular ⁽²⁵⁾. Com o aumento da concentração dos extratos, foi observado o aumento da quantidade dos compostos fenólicos, com isso, as raízes que foram submetidas aos tratamentos com o extrato aquoso na maior concentração (12 g.L⁻¹) tiveram a redução do índice mitótico, quando comparado com os tratamentos na concentração de 6 g.L⁻¹.

A quantidade mais elevada de ácido clorogênico pode estar associada à capacidade antiproliferativa demonstrada, assim como os componentes ácido rosmarínico e ácido gálico, que também se apresentam em quantidades significativas nos extratos aquosos das folhas de manjerona de ambos os ambientes de cultivo e secagem. A capacidade antiproliferativa do ácido rosmarínico foi verificada por Kuhn et al. ⁽¹⁰⁾ em análise dos extratos aquosos das plantas *Peltodon longipes* Kunth ex Benth do acesso Tupanciretã. Assinala-se que o ácido rosmarínico possui diversas atividades biológicas, entre elas: antioxidante, anti-inflamatória, antiviral, hipoglicemiante, antitumoral e neuroprotetora ⁽²⁶⁾.

Considerações Finais

Por fim, a partir dos resultados obtidos, é possível inferir que os extratos aquosos de *Origanum majorana* possuem efeito antiproliferativo e genotóxico sobre o sistema teste de *Allium cepa*. A análise dos extratos aquosos revelou a presença dos seguintes compostos



fenólicos: ác. gálico, ác. clorogênico, ác. cafeíco, ác. rosmarínico, rutina, quercitina, luteolina, apigenina, tendo o ácido clorogênico como elemento majoritário nas plantas estudadas.

Referências

- 1 Dutra RC, Campos MM, et al. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. *Pharmacological research*. 2016;112: 4-29. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.01.021>
- 2 Chishti S, Kaloo ZA, et al. Phalestine. Medicinal importance of genus *Origanum*: A review. *J. Pharmacogn. Phytother.* 2013;5(10):170-177. <https://doi.org/10.5897/JPP2013.0285>
- 3 Alekseeva M, Zagorcheva T, et al. *Origanum vulgare* L.—a review on genetic diversity, cultivation, biological activities, and perspectives for molecular breeding. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2020;26(6):1183-1197.
- 4 Paparella A, Mazzarrino G, et al. Chitosan boosts the antimicrobial activity of *Origanum vulgare* essential oil in modified atmosphere packaged pork. *Food Microbiology*. 2016;59:23-31. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.05.007>
- 5 Soltani S, Shakeri A, et al. A Review of the Phytochemistry and Antimicrobial Properties of *Origanum vulgare* L. and Subspecies. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*. 2021;20(2):268. <https://doi.org/10.22037/Ijpr.2020.113874.14539>
- 6 Goyal S, Tewari G, et al. Exploration of Productivity, Chemical Composition, and Antioxidant Potential of *Origanum vulgare* L. Grown at Different Geographical Locations of Western Himalaya, India. *Journal of Chemistry*. 2021:1-12. <https://doi.org/10.1155/2021/6683300>
- 7 Al-Hamdani A, Jayasuriya H, et al. Drying Characteristics and Quality Analysis of Medicinal Herbs Dried by an Indirect Solar Dryer. *Foods*. 2022;11(24):4103. <https://doi.org/10.3390/foods11244103>
- 8 Gonçalves RN, Gonçalves, JRDSN, et al. Plantas medicinais na Atenção Primária à Saúde: riscos, toxicidade e potencial para interação medicamentosa. *Revista de APS*. 2022;25(1):120-153.
- 9 Madić V, Stojanović-Radić, Z, et al. Genotoxic and antigenotoxic potential of herbal mixture and five medicinal plants used in ethnopharmacology. *South African Journal of Botany*. 2019;125:290-297. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.07.043>



- 10 Kuhn AW, Tedesco M, et al. Andrielle Wouters et al. Mutagenic and antimutagenic effects of *Eugenia uniflora* L. by the *Allium cepa* L. test. *Caryologia*. 2015;68(1):25-30. <https://doi.org/10.1080/00087114.2014.998525>
- 11 Tedesco SB, Laughinghouse HD. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test In: SRIVASTAVA, J. Environmental Contamination. Rijeka: InTech, 2012. Cap. 8, p. 137-157
- 12 Guerra M, Souza MJ. Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: Ed. FUNPEC, 2002. 131p.
- 13 Duarte AE, Waczuk EP, et al. Polyphenolic composition and evaluation of antioxidant activity, osmotic fragility and cytotoxic effects of *Raphiodon echinus* (Nees & Mart.) Schauer. *Molecules*. 2015;21(1): 2. <https://doi.org/10.3390/molecules21010002>
- 14 Ayres M. BioEstat 5.3: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. 5. Ed. Belém: Sociedade Civil Mamirauá; 2007.
- 15 Ferreira DF. Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*. 2021;35:1039-1042.
- 16 Rodrigues LG, de Senna Pereira J, et al. Antiproliferative analysis of aqueous extracts of cabreuva (*Myrocarpus frondosus*) on the *Allium cepa* cell cycle. *Caryologia*. 2020;73(4):39-44. <https://doi.org/10.13128/caryologia-776>
- 17 Pastori T, Kuhn AW, et al. Ação genotóxica e antiproliferativa de *Polygonum punctatum* Elliott (Polygonaceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L.. *Revista Brasileira Plantas Mediciniais*. 2015;17(2):186-194. https://doi.org/10.1590/1983-084X/13_023
- 18 Pasqualli M, Tedesco M. Potencial antiproliferativo e genotóxico de *Allophylus edulis* (A.St.-Hil., Cambess. & A. Juss.) Radlk. pelo teste de *Allium cepa* L. *Enciclopédia Biosfera*. 2015;11(21):2365-2372.
- 19 Dias MG, Canto-Dorow TS, et al. Efeito genotóxico e antiproliferativo de *Mikania cordifolia* (L. F.) Willd. (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa* L. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. 2014;16(2):202-208. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722014000200006>
- 20 Trapp KC, Frescura V, et al. Efeitos genotóxicos e antiproliferativos de *Prunus myrtifolia* (Pessegueiro-do-mato) pelo teste de *Allium cepa*. *Enciclopédia Biosfera*. 2015;11(21): p. 2222-2230.
- 21 da Silva Amorim Á, Gonzalez Frota R, et al. Avaliação citológica, genotóxica e mutagênica do Infuso da espécie quebra-pedra (*Phyllanthus amarus*-Euphorbiaceae) em diferentes concentrações através do sistema *Allium cepa*. *RevInter*. 2018;11(3):151-161. <http://dx.doi.org/10.22280/revintervol11ed3.394>



22 Santos L, Santos A, Efeito citotóxico e genotóxico de *Paullinia cupana* (kunth). *Enciclopedia Biosfera*. 2018;15(27):219-233. <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/603>

23 Sakurai FN, Estrela KCA, et al. The characterization of functional properties of aromatic herbs used in a hospital specialized in cardiopneumology. *Demetra: Food, Nutrition & Health*. 2016;11(4):097-1114. <https://doi.org/10.12957/demetra.2016.18170>

24 Aras A, Silinsin, M, et al. Identification of bioactive polyphenolic compounds and assessment of antioxidant activity of *Origanum acutidens*. *International Letters of Natural Sciences*, 2017;66:1-8. <http://dx.doi.org/10.18052/www.scipress.com/ILNS.66.1>

25 Fachinnetto JM, Bagatini MD, et al. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2007;17:49-54. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2007000100011>

26 Noor S, Mohammad T, et al. Biomedical features and therapeutic potential of rosmarinic acid. *Archives of Pharmacal Research*. 2022;45(4),205-228. <https://doi.org/10.1007/s12272-022-01378-2>



10.31072/rcf.v14i2.1317

Este é um trabalho de acesso aberto e distribuído sob os Termos da *Creative Commons Attribution License*. A licença permite o uso, a distribuição e a reprodução irrestrita, em qualquer meio, desde que creditado as fontes originais.



Open Access