

# Efeito da administração oral de extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) no desenvolvimento do Tumor Sólido de Ehrlich

## Effect of oral administration of the ethanol extract of *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) in the development of Ehrlich Solid Tumor

<sup>1</sup>GUILARDUCCI, Nathália V.; <sup>1</sup>ARAÚJO, Sthéfane G.; <sup>1</sup>PEREIRA, Adriana F.; <sup>1</sup>RIBEIRO, Rosy I. M. A.; <sup>1</sup>LIMA, Luciana A. R. S.; <sup>2</sup>PINTO, Flávia C. H.\*

<sup>1</sup>Universidade Federal de São João Del-Rei, *Campus* Centro-Oeste Dona Lindu, MG.

<sup>2</sup>Universidade Federal de São João Del-Rei, Departamento de Ciências Naturais, *Campus* Dom Bosco MG.

\*Correspondência: fcarmo3@hotmail.com

### Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da administração oral diária de extrato etanólico de *R. officinalis* no desenvolvimento do Tumor Sólido de Ehrlich. Camundongos Swiss foram separados em três grupos A, B e C (n=6). Os animais do grupo A (controle) ingeriram solução salina durante todo o experimento. Os animais do grupo B, a partir do 1º dia, receberam diariamente, por gavagem, uma dose de 100 mg/kg do extrato etanólico de *R. officinalis*. Os animais do grupo C iniciaram, no 21º dia, a ingestão diária desse extrato. No 21º dia, todos os camundongos foram inoculados subcutaneamente no coxim plantar esquerdo com 2 x 10<sup>6</sup> células do Tumor de Ehrlich. No 42º dia, os animais foram sacrificados e suas patas foram removidas para análise histopatológica. Os resultados obtidos, através da mensuração da espessura das patas, mostraram que o grupo controle e os grupos que receberam o extrato, apresentaram o mesmo crescimento tumoral. Nas análises histopatológicas, não foram observadas diferenças na morfologia das células tumorais entre os grupos. A administração oral diária de 100 mg/kg de extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* não afetou o potencial proliferativo de tumor. Outras concentrações do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* serão estudadas em experimentos futuros.

**Palavras-chave:** Tumor Sólido de Ehrlich. *Rosmarinus officinalis*. Atividade antitumoral. Histopatologia.

### Abstract

The aim of this study was to evaluate the effects of daily oral administration of ethanol extract of *R. officinalis* in the development of Ehrlich solid tumor. *Swiss* mice were divided into three groups A, B and C (n = 6). The animals

of group A (control) received saline throughout the experiment. The animals of group B, from day 1, received daily by gavage, a dose of 100 mg/kg of *R.officinalis* ethanol extract. The animals of group C, on day 21, began the daily intake of this extract. At day 21, all mice were inoculated with  $2 \times 10^6$  Ehrlich tumor cells in the left footpad. On day 42, the animals were sacrificed; their footpads were measured and removed for histopathological analysis. The results showed that the control group and the groups receiving the extract, before and after tumor inoculation, presented the same tumor growth. Furthermore, the histopathological analysis showed no differences in the morphology of tumor cells between groups. The daily oral administration of 100 mg/kg ethanol extract of *Rosmarinus officinalis* did not affect the proliferative potential of tumor. Other concentrations this ethanol extract times will be studied in future experiments.

**Keywords:** Ehrlich solid tumor. *Rosmarinus officinalis*. Antitumor activity. Histopathology.

## Introdução

O câncer é uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo. Os tratamentos utilizados, como os quimioterápicos e radioterápicos, têm efeitos colaterais indesejáveis e, muitas vezes, deficientes respostas terapêuticas. Portanto, há uma incessante busca por fármacos mais eficientes, que tenham baixa toxicidade e, conseqüentemente, causem o mínimo de efeitos colaterais (ZUANAZZI e MAYORGA, 2010).

A quimioprevenção do câncer é um dos métodos promissores para o controle do câncer. Nas últimas décadas, ocorreu um grande aumento no número de estudos relacionados com a atividade biológica de substâncias naturais derivadas de plantas medicinais. Em particular, a descoberta de produtos naturais com ação específica para certos tipos de tumores seria útil na quimioprevenção e na quimioterapia do câncer (RAHNAMA et al., 2014). Desta forma, há um incentivo muito grande na busca de drogas antitumorais, e as plantas são constituídas de diversos compostos farmacologicamente ativos (ZHOU e WU, 2006).

O Brasil é um país de grande biodiversidade vegetal, com inúmeras plantas sendo utilizadas por grande

parte da população, na forma de fitoterápicos e nutracêuticos (BOLIGON et al., 2008). A espécie *Rosmarinus officinalis* L., pertencente à família Lamiaceae, conhecida popularmente como alecrim, é originária da Região Mediterrânea, sendo uma planta aromática e cultivada em ambientes domésticos em muitas partes do mundo. A planta possui porte subarborescente lenhoso, ereto e pouco ramificado de até 1,5 m de altura. As folhas são lineares, coriáceas e muito aromáticas, medindo 1,5 a 4 cm de comprimento por 1 a 3 mm de espessura (LORENZI e MATOS, 2008). *Rosmarinus officinalis* apresenta grande importância econômica, sendo cultivado para utilização na indústria de alimentos, cosméticos e também para fins medicinais (CASTRO e LIMA, 2011).

Estudos fitoquímicos com a espécie *Rosmarinus officinalis* detectaram várias classes de compostos responsáveis por atividades medicinais, dentre elas a atividade antitumoral (CHEUNG e TAI, 2007; KONGOIANNI et al., 2013). Vários estudos experimentais demonstram essa atividade antitumoral, a partir dos compostos presentes no alecrim, como: ácido carnósico, carnosol e rosmanol, e os constituintes fenólicos, como: o ácido rosmarínico, destacando o seu potencial antígeno-tóxico e antioxidante (PARMAR et al., 2011; PETIWALA et al., 2014).

Sancheti e Goyal (2007) avaliaram os efeitos do extrato metanólico de alecrim sobre a carcinogênese na pele de rato, e constataram que a administração desse extrato inibiu a iniciação tumoral. O estudo realizado por Huang e colaboradores (1994) mostrou que o carnosol, *in vivo*, inibiu a invasão de células B16/F10 de melanoma metastático em modelos animais. Rahnema e colaboradores (2014) mostraram que o carnosol, administrado durante sete dias por via intraperitoneal, em camundongos portadores de fibrossarcoma, foi capaz de causar uma supressão significativa do crescimento tumoral.

Segundo Parmar e colaboradores (2011), o carnosol representa uma classe de agente quimiopreventivo que pode ter uma importante função, modulando o processo de carcinogênese, sendo atribuído ao seu grande potencial antioxidante. O carnosol apresenta reconhecida capacidade antitumoral em diversas linhagens de células tumorais humanas, como por exemplo, em cânceres de pulmão, adenocarcinoma de mama, carcinoma hepatocelular, câncer de próstata e leucemia mielóide crônica (YESIL-CELIK TAS et al., 2010; WEI et al., 2008; TAI et al., 2012).

Portanto, a partir do provável potencial antitumoral do extrato de *Rosmarinus officinalis*, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da administração oral de extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento do Tumor Sólido de Ehrlich.

## **Materiais e Métodos**

### **Animais**

Foram utilizados dezoito camundongos fêmeas da linhagem *Swiss*, com peso em torno de 25-30 g e idade entre três e quatro meses, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Minas Gerais (CEBIO). Durante todo o período de experimentação, os animais permaneceram no Biotério de Experimentação do Campus Centro-

Oeste Dona Lindu (CCO), da Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ), em Divinópolis. Os animais foram mantidos em condições ambientais padronizadas, alimentados com dieta balanceada e água *ad libitum*. Todos os procedimentos realizados neste experimento foram avaliados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFSJ – CEUA/UFSJ (Nº 25/2011).

### **Coleta do material vegetal**

Partes aéreas da espécie *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim), em estágio adulto, foram coletadas na cidade de Carmópolis de Minas (coordenadas “-20° 32’ 44.57”, “-44° 38’ 37.09”), Minas Gerais, Brasil, entre março e abril de 2012, e uma exsicata foi depositada no Herbário do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, com o número de registro BHCB 147245, sendo identificada pelo Prof. Dr. Alexandre Salino.

### **Preparação e partição do extrato vegetal**

Um total de 206,84 g de material vegetal fresco foi triturado e deixado em maceração por 10 dias, em etanol P.A. Após esse período, o material foi filtrado e seco em rotavapor, obtendo-se 10,56 g de extrato etanólico. As soluções para o tratamento dos animais foram obtidas pela ressuspensão desse extrato etanólico em solução salina (NaCl 0,9%).

### **Tratamento dos animais com extrato de *Rosmarinus officinalis***

Os animais foram separados em três grupos A, B e C. Cada grupo composto por 6 animais. Os animais do grupo A receberam, diariamente, solução salina (NaCl 0,9%), sendo, portanto o grupo controle. Os animais do grupo B, a partir do 1º dia, receberam diariamente, por gavagem, uma dose de 100 mg/kg do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis*. Os animais do grupo C, a partir do 21º dia, receberam diariamente, por gavagem, uma dose de 100 mg/kg

do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis*. O peso corporal de cada animal foi avaliado no início e no final do experimento. Todo o experimento teve uma duração de 42 dias.

### **Preparo e inoculação do Tumor Experimental de Ehrlich**

As células do Tumor Experimental de Ehrlich (EET), um adenocarcinoma mamário, foram mantidas na forma ascítica por meio de inoculações semanais de  $10^6$  células por via *i.p.* em camundongos *Swiss*. Para os procedimentos experimentais, a partir de camundongos pré-inoculados, três ml do fluido ascítico foram retirados, centrifugados (3 min, 200xg) e o sobrenadante removido. As células EET foram lavadas três vezes em solução salina, contadas em câmara de Neubauer e a viabilidade determinada através do método de exclusão pelo corante azul de tripan. No 21º dia todos os camundongos foram inoculados subcutaneamente com  $2 \times 10^6$  células do Tumor Experimental de Ehrlich (0,05 mL), no coxim plantar esquerdo, para o desenvolvimento do tumor sólido (OLORIS et al., 2002; PINTO et al., 2009; RIBEIRO et al., 2012).

### **Avaliação do crescimento tumoral**

Para a avaliação da curva de crescimento tumoral foram realizadas mensurações em duplicata da espessura dorso-plantar do membro posterior esquerdo de cada animal. Essa mensuração foi realizada com o auxílio de um paquímetro digital imediatamente antes e após a inoculação do tumor, três vezes por semana, durante 21 dias. Os valores médios obtidos diariamente foram considerados como sendo o valor do crescimento tumoral do dia. Após o término do experimento, no 42º dia, os animais foram anestesiados com solução contendo xilazina (0,002 mg/mL), ketamina (50 mg/mL), e salina na proporção de 1:0,5:3, respectivamente. Cada camundongo foi anestesiado com a

administração intraperitoneal de 0,2 mL da solução anestésica descrita acima e sacrificados por deslocamento cervical. Esses animais foram necropsiados, para a coleta do coxim plantar esquerdo e dos linfonodos poplíteos esquerdos, para análise histopatológica. O material foi fixado em formol tamponado, desidratado em soluções sucessivas de álcoois e incluído em parafina. Os blocos de parafina foram seccionados em micrótomo, obtendo-se cortes de 4  $\mu$ m, que posteriormente foram corados por Hematoxilina-Eosina (HE) para avaliação qualitativa da massa tumoral, da reação inflamatória e das áreas de necrose (RIBEIRO et al., 2012). A partir das lâminas histológicas coradas por HE, foram realizadas análises semi-quantitativas das áreas de necrose, através de um analisador de imagens digital (Programa KS300; versão 2.0, da Kontron Elektronik), sendo as imagens geradas por um microscópio Zeiss Axiolab conectado a uma câmera interligada a uma placa digitalizadora no computador. Um total de cinco campos por caso/lâmina foram analisados a um aumento de 100x, sendo esses campos selecionados ao acaso.

### **Análise estatística**

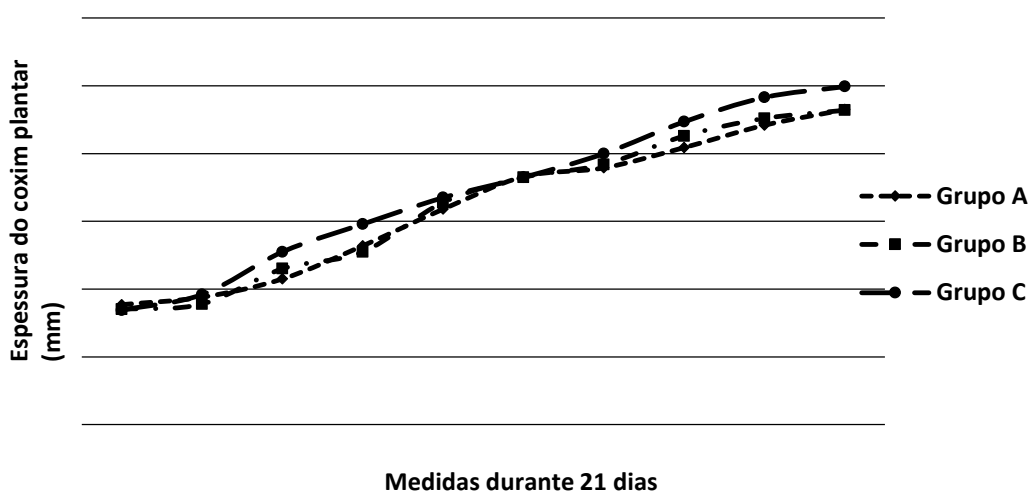
Os procedimentos estatísticos foram realizados com auxílio do Software GraphPad Prism, versão 4.0, por análise de variância (ANOVA), seguido do teste Tukey-Kramer, sendo o nível de significância de 5%. Os dados foram expressos com a média  $\pm$  erro padrão da média de seis animais por grupo (ARAÚJO et al., 2010).

## **Resultados e Discussão**

O Tumor de Ehrlich, derivado de um adenocarcinoma mamário de camundongo, tem sido usado como modelo de tumor transplantável para investigar os efeitos antineoplásicos de muitas substâncias ou compostos (OLIVEIRA et al., 2010).

O estudo mostrou que a dose diária de 100 mg/kg do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* administrado por gavagem produziu um crescimento contínuo do tumor ao longo de todo o experimento, como avaliado através das medições da espessura do coxim plantar. Comparando-se o grupo controle

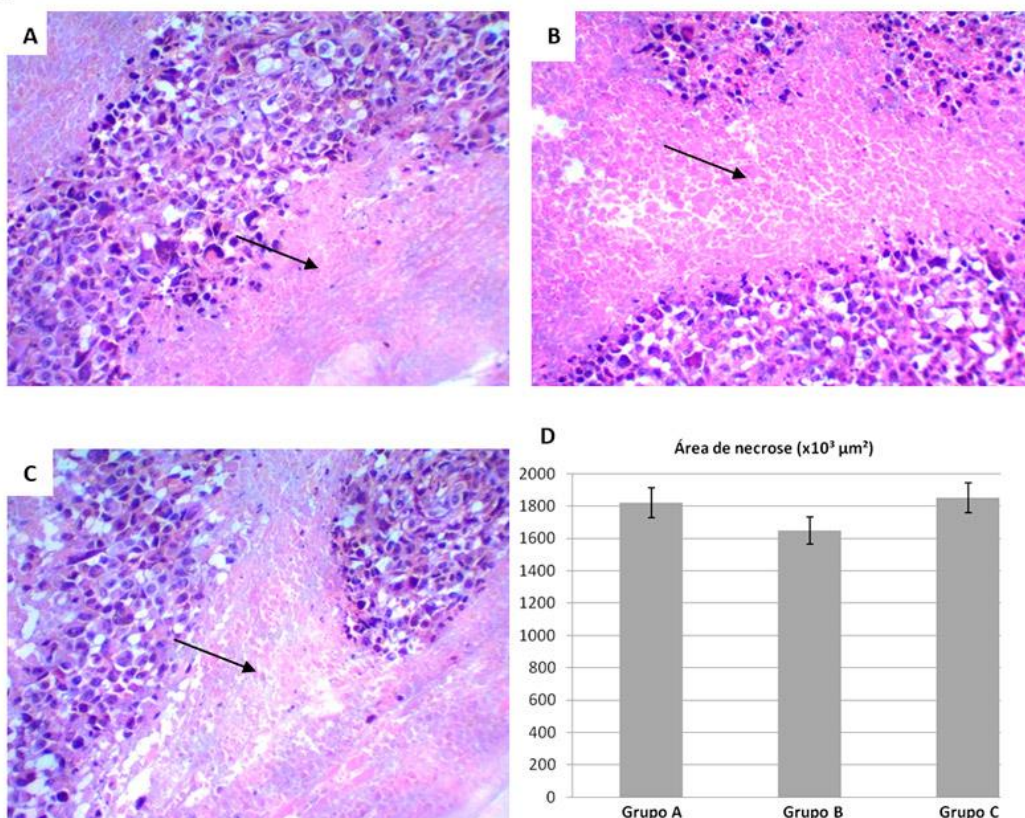
com os grupos que receberam o extrato, tanto antes da inoculação tumoral como depois, foi constatado um crescimento tumoral similar em todos os grupos ( $P>0,05$ ). No final do experimento as medidas das patas foram: A-  $4,65\pm 0,26$ ; B-  $4,64\pm 0,64$ ; C-  $4,99\pm 0,69$ , como ilustra a **FIGURA 1**.



**FIGURA 1.** Evolução da espessura do coxim plantar (mm) do primeiro ao 21º dia após a inoculação subcutânea de  $2 \times 10^6$  células do Tumor Experimental de Ehrlich. O grupo A representa os camundongos do grupo controle, o grupo B representa os camundongos que iniciaram a ingestão diária de 100 mg/kg do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis*, antes da inoculação do tumor, e o grupo C representa os camundongos que iniciaram a ingestão deste extrato, após a inoculação do tumor (ANOVA, Teste Tukey-Kramer).

Na necropsia, os tumores, independente da administração ou não do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis*, apresentaram-se semelhantes, esbranquiçados e infiltrando os tecidos adjacentes. Nas análises histopatológicas das massas tumorais dos animais do grupo A (controle) e dos grupos que receberam o extrato, tanto antes (grupo B) da inoculação tumoral como depois (grupo

C), foram observadas extensas áreas eosinofílicas e amorfas de necrose, localizadas preferencialmente na derme profunda, de aspecto granuloso e limites imprecisos, indicativo de danos celulares (**FIGURA 2A, 2B e 2C**) As análises semi-quantitativas confirmaram que os animais dos grupos A, B e C não apresentaram diferenças significativas nas áreas de necrose (**FIGURA 2D**).



**FIGURA 2.** Análises histopatológicas do coxim plantar inoculado com células do Tumor Experimental de Ehrlich. Em **(A)** presença de extensas áreas eosinofílicas (seta) de necrose do grupo controle (grupo A; HE, 100x). Em **(B)** presença de extensas áreas eosinofílicas (seta) de necrose do grupo que iniciou a ingestão do extrato antes da inoculação tumoral (grupo B; HE, 100x). Em **(C)** presença de extensas áreas eosinofílicas (seta) de necrose do grupo que iniciou a ingestão do extrato depois da inoculação tumoral (grupo C; HE, 100x). Em **(D)** análise semi-quantitativa das áreas de necrose ( $\mu\text{m}^2$ ) ( $P > 0,05$ ; ANOVA, Teste Tukey-Kramer).

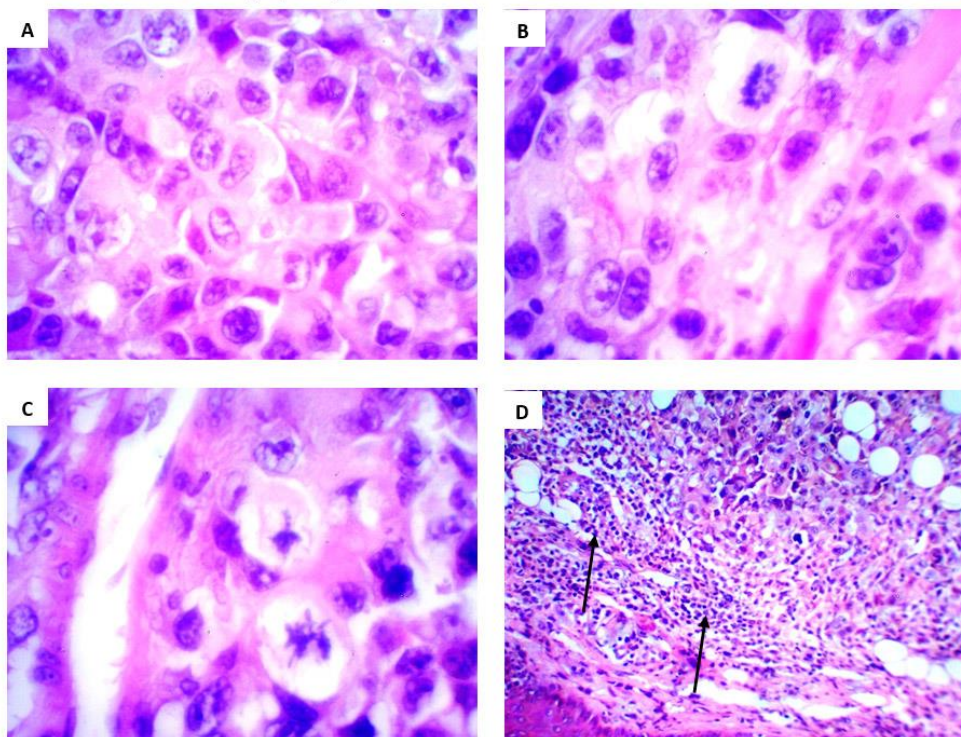
As extensas áreas de necrose estão de acordo com os dados da literatura (MULTHOFF; RADONS; VAUPEL, 2014; VAUPEL; MAYER, 2014) que relatam que a necrose está diretamente associada com progressão tumoral, aumento da agressividade e potencial metastático, o que pode culminar em pior prognóstico. As células neoplásicas malignas apresentam alta taxa de multiplicação, sendo seu crescimento rápido. O mesmo não ocorre com o estroma e os vasos sanguíneos, que se desenvolvem mais lentamente, resultando frequentemente em degenerações, necroses, hemorragias e ulcerações (PINTO et al., 2009).

As células tumorais mostraram-se à microscopia óptica uma morfologia semelhante em todos os grupos (**FIGURAS 3A, 3B e 3C**), apresentando pleomorfismo, citoplasma levemente basofílico e reduzido, núcleo oval e basofílico, com vários nucléolos evidentes e figuras de mitose, de acordo com os resultados da literatura (RIBEIRO et al., 2012). Em todos os grupos, nas áreas de intensa proliferação celular, foram observados processos inflamatórios predominantemente mononucleares, como mostra a (**FIGURA 3D**). O desenvolvimento de tumores *in vivo* está associado com processo inflamatório. A análise histológica de tumores



extraídos de humanos e animais demonstra graus variados de infiltração mononuclear, sugerindo o

recrutamento dessas células em resposta à proliferação neoplásica (DALTOÉ et al, 2010).



**FIGURA 3.** Análises histopatológicas do coxim plantar inoculado com células do Tumor Experimental de Ehrlich. Em **(A)** morfologia das células tumorais do grupo controle (grupo A; HE, 400x). Em **(B)** morfologia das células tumorais do grupo que iniciou a ingestão do extrato antes da inoculação tumoral (grupo B; HE, 400x). Em **(C)** morfologia das células tumorais do grupo que iniciou a ingestão do extrato depois da inoculação tumoral (grupo C; HE, 400x). Em **(D)** presença de infiltrado inflamatório mononuclear (setas) em torno das células tumorais (HE, 100x).

Na necropsia, os linfonodos poplíteos esquerdos, que drenavam os coxins plantares inoculados com o tumor, dos animais do grupo controle e dos grupos que receberam o extrato de *Rosmarinus officinalis*, não apresentaram aumento de volume, quando comparados com os mesmos órgãos contralaterais. As análises histopatológicas desses órgãos, não apresentaram infiltração de células tumorais, concluindo-se que não houve metástase nos órgãos linfoides analisados. Segundo Dagli e colaboradores

(1992), a ocorrência de metástases não é comum no Tumor Experimental de Ehrlich.

Segundo Afonso, Sant'ana e Mancini-Filho (2010), as propriedades antioxidantes dessa espécie têm sido atribuídas a uma variedade de isoprenoides, quinonas, diterpenos fenólicos como ácido carnósico e carnosol, ácido rosmarínico, além de antioxidantes adicionais incluindo os flavonoides e os ácidos fenólicos. Os flavonoides são conhecidos por afetar a proliferação, diferenciação e apoptose de células

cancerígenas (ARAÚJO et al., 2010). O aumento dos índices de apoptose tem sido associado à inibição do crescimento de células potencialmente oncogênicas (CAMPISI, 2005).

Estudos, em modelos animais, mostram que as substâncias presentes nos extratos de *Rosmarinus officinalis* têm demonstrado uma ação quimiopreventiva e antitumoral em várias linhagens de células como câncer de mama, fígado, próstata e câncer de pulmão (GONZÁLEZ-VALLINAS et al., 2013). As folhas do *Rosmarinus officinalis* contêm vários compostos antioxidantes. Cerca de 90% dessa atividade antioxidante pode ser atribuída ao carnosol e ao ácido carnósico (GONZALEZ-VALLINAS et al., 2014).

No presente estudo, observou-se que a administração oral diária de 100 mg/kg do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* não alterou o potencial proliferativo do tumor e o padrão histológico das células do Tumor Sólido de Ehrlich. Os resultados mostraram que a concentração utilizada não foi capaz de induzir uma supressão do crescimento tumoral. Outras concentrações do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* e a administração por via intraperitoneal serão estudadas em futuros experimentos, considerando os relatos da literatura em relação ao potencial antitumoral (antioxidante) da espécie.

## Conclusão

A administração oral diária de 100 mg/kg de extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* não afetou o potencial proliferativo de tumor e o padrão histológico das células tumorais. Outras concentrações do extrato etanólico de *Rosmarinus officinalis* e a administração por via intraperitoneal serão estudadas em futuros experimentos, considerando os relatos da literatura em relação ao potencial antitumoral (antioxidante) da espécie.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Universidade Federal de São João Del Rei (UFSJ) pela bolsa concedida. Ao Prof. Dr. Alexandre Salino pela identificação do material vegetal.

## Referências

AFONSO, M.S.; SANT'ANA, L.S.; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas do oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contribuição. *Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alim. Nutri.*, São Paulo, v.35, n.1, p.129-148, 2010. ISSN 1519-8928.

ARAÚJO, M.J.A.M.; DUTRA, R.P.; COSTA, G.C.; REIS, A.S.; ASSUNÇÃO, A.K.M.; LIBÉRIO, S.A.; Márcia C. G. MACIEL, M.C.G.; SILVA, I.A.; GUERRA, R.N.M.; Maria N. S. RIBEIRO, M.N.S.; NASCIMENTO, F.R.F. Efeito do tratamento com própolis de *Scaptotrigona aff. postica* sobre o desenvolvimento do tumor de Ehrlich em camundongos. Elsevier, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v.20, n.4, p.580-587, 2010. ISSN: 1981-528X.

BOLIGON, A.A.; PIVETTA, C.R.; ATHAYDE, M.L.; LORENTZ, L.H. Atividade antioxidante de agrião (*Nasturtium officinale*) cultivado em sistema hidropônico. *Horticultura Brasileira*, Brasília, v.26, n.2, p.29-32, 2008. ISSN: S0102-0536.

CAMPISI, J. Aging, tumor suppression and cancer: high wireact! *Mechanisms of Ageing and Development*, Elsevier, USA, v.126, p.51-58, 2005. ISSN: 0047-6374.

CASTRO, R.D; LIMA, E.O. Atividade antifúngica dos óleos essenciais de sassafrás (*Ocotea odorifera*



Vell.) e alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o gênero *Candida*. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, Botucatu, v.8, n.1, v.13, n.2, p.203-208, 2011. ISSN: 1983-084X.

CHEUNG, S.; TAI, J. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. *Oncology Reports*, Atenas, v.17, n.6, p.1525-1531, 2007. ISSN: 1791-2431. [[PubMed](#)]

DAGLI, M.L.Z.; SOMA, M.; GUERRA, J.L.; SALDIVA, P.H.N. Lymphatic dissemination in neoplasia: determination of nuclear volume and DNA content of primitive and regional lymphnode Ehrlich tumor cells. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, USP, São Paulo, v.29, p.267-271, 1992. ISSN: 1678-4456.

DALTOÉ, R.D.; PAULA, A.D.; DASÍLIO, K.L.A.; MADEIRA, K.P.; SILVA, I.V.; RANGEL, L.B.A. O papel paradoxal do sistema imune no câncer de ovário. *Arquivos Catarinenses de Medicina*, UNESC, Florianópolis, v.39, n.2, p.87-92, 2010. ISSN: 0004-2773.

GONZALEZ-VALLINAS, M.; MOLINA, S.; VICENTE, G.; de la CUEVA, A.; VARGAS, T.; SANTOYO, S.; GARCIA-RISCO, M.R.; FORNARI, T.; REGLERO, G.; RAMIREZ, A. Antitumor effect of 5-fluorouracil is enhanced by rosemary extract in both drug sensitive and resistant colon cancer cells. *Pharmacological Research*, Elsevier, USA, v.72, p.61-68, 2013. ISSN: 1043-6618.

GONZALEZ-VALLINAS, M.; MOLINA, S.; VICENTE, G.; ZARZA, V.; MARTIN-HERNÁNDEZ, R.; GARCIA-RISCO, M.R.; FORNARI, T.; REGLERO, G.; MOLINA, A.R. Expression of microRNA-15b and the glycosyltransferase GCNT3 correlates with antitumor efficacy of Rosemary diterpenes in colon and pancreatic cancer. *Plos One*, San Francisco, v.9, n.6, p.1-10, 2014. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

HUANG, H.O.; HO, C.; WANG, Z.Y.; FERRARO, T.; LOU, Y.; STAUBER, K.; MA, W.; GEORGIADIS, C.; LASKIN, J.D.; CONNEY, A.H. Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. *Cancer Research*, AACR, USA, v.54, p.701-708, 1994. ISSN: 1538-7445.

KONTOGIANNI, V.G.; TOMIC, G.; NIKOLIC, I.; NERANTZAKI, A.A.; SAYYAD, N.; STOSIC-GRUJICIC, S.; STOJANOVIC, I.; GEROTHANASSIS, I.P.; TZAKOS, A.G. Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food Chemistry*, Elsevier, USA, v.136, p.120-129, 2013. ISSN: 0308-8146.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. *Plantas medicinais do Brasil Nativas e Exóticas*. 2ª ed. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda., Jardim Botânico, Nova Odessa, 544p. 2008.

MULTHOFF, G.; RADONS, J.; VAUPEL, P. Critical role of aberrant angiogenesis in the development of tumor hypoxia and associated radio resistance. *Cancers (Basel)*, Beijing, China, v.6, n.2, p. 813-828. 2014. ISSN 2072-6694. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

OLIVEIRA, L.P.; PINHEIRO, R.C.; VIEIRA, M.S.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F.; VALADARES, M.C. Atividade citotóxica e antiangiogênica de *Punica granatum* L., Punicaceae. Elsevier, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v.20, n.2, p.201-207, 2010. ISSN: 1981-528X.

OLORIS, S.C.S.; DAGLI, M.L.Z.; GUERRA, J.L. Effect of  $\beta$ -carotene on the development of the solid Ehrlich tumor in mice. Elsevier, *Life Sciences*, USA, v.71, p.717-724, 2002. ISSN: 0024-3205.

PARMAR, J.; SHARMA, P.; VERMA, P.; SHARMA, P.; GOYAL, P.K. *Anti-tumor and Anti-oxidative*

- Activity of Rosmarinus officinalis in Dimethyl Benz (a) Anthracene Induced Skin Carcinogenesis in Mice.* Science PG, *American Journal of Biomedical Sciences*, New York, v.3, n.3, p.199-209, 2011. ISSN: 2330-880X.
- PETIWALA, S.M.; BERHE, S.; LI, G.; PUTHENVEETIL, A.G.; RAHMAN, O.; NONN, L.; JOHNSON, J.J. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Extract Modulates CHOP/GADD153 to Promote Androgen Receptor Degradation and Decreases Xenograft Tumor Growth. *Plos One*, San Francisco, v.9, n.3, p.1-13, 2014. [[CrossRef](#)].
- PINTO, F.C.H.; MENEZES, G.B.; MOURA, S.A.; CASSALI, G.D.; TEIXEIRA, M.M.; CARA, D.C. Induction of apoptosis in tumor cells as a mechanism of tumor growth reduction in allergic mice. Elsevier, *Pathology Research Practice*, USA, v.205, p.559-567, 2009. ISSN: 0344-0338.
- RAHNAMA, M.; MAHMOUDI, M.; ZAMANI TAGHIZADEH RABE, S; BALALI-MOOD, M.; KARIMI, G.; TABASI, N.; RIAHI-ZANJANI, B. Evaluation of anti-cancer and immunomodulatory effects of carnosol in a Balb/c WEHI-164 fibrosarcoma model. Taylor & Francis Group, *Journal of Immunotoxicology*, USA, v.16, p.1-8, 2014. ISSN: 1547-6901. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- RIBEIRO, A.F.C.; TELLES, T.C.; FERRAZ, V.P.; SOUZA-FAGUNDES, E.M.; CASSALI, G.D.; CARVALHO, A.T.; MELO, M.M. Effect of *Arrabidaea chica* extracts on the Ehrlich solid tumor development. Elsevier, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v.22, n.2, p.364-373, 2012. ISSN: 1981-528X.
- SANCHETI, G.; GOYAL, P.K. Effect of *Rosmarinus officinalis* on DMBA-induced mouse skin tumorigenesis: A preliminary study. *Pharmacology online*, Jaipur, Índia, v.1, p. 545-556. 2007.
- TAI, J.; CHEUNG, S.; WU, M.; HASMAN, D. Antiproliferation effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) on human ovarian cancer cells in vitro. Elsevier, *Phytomedicine*, USA, v.19, n.5, p.436-443, 2012. ISSN: 0944-7113. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- VAUPEL, P.; MAYER, A. Hypoxia in tumors: pathogenesis-related classification, characterization of hypoxia subtypes, and associated biological and clinical implications. Springer, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, USA, v.812, p.19-24, 2014. ISSN: 0065-2598. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- WEI, F.X.; LIU, J.X.; WANG, L.; LI, H.Z.; LUO, J.B. Expression of bcl-2 and bax genes in the liver cancer cell line HepG2 after apoptosis induced by essential oils from *Rosmarinus officinalis*. *SJR, Zhong Yao Cai*, China, v.31, n.6, p.877- 879. 2008. [[PubMed](#)]
- YESIL-CELIK TAS, O.; SEVIMLI, C.; BEDIR, E.; VARDAR-SUKAN, F. Inhibitory Effects of Rosemary Extracts, Carnosic Acid and Rosmarinic Acid on the Growth of Various Human Cancer Cell Lines. Springer, *Plant Foods for Human Nutrition*, USA, v.65, n.2, p.158-163, 2010. ISSN: 1573-9104.
- ZHOU, L.G.; WU, J.Y. Development and application of medicinal plant tissue cultures for production of drugs and herbal medicinal in China. Royal Society of Chemistry, *National Product Report*, USA, v.23, p.789–810, 2006. [[PubMed](#)]
- ZUANAZZI, J.A.S.; MAYORGA, P. Fitoprodutos e desenvolvimento econômico. SBQ, *Química Nova*, São Paulo, v.33, n.6, p.1421-1428, 2010. ISSN 0100-4042.