



Extração do óleo de lavanda e avaliação de sua atividade citotóxica/antitumoral

Lavender oil extraction and evaluation of its cytotoxic/antitumor

Thais de Souza Visgueira Lima¹, Patricia Aline Bressiani², Irede Angela Lucini Dalmolin³,
Maria Helene Giovanetti Canteri⁴, Elisângela Düsman⁵

RESUMO

Oriunda do Mediterrâneo, a *Lavandula dentata* é a espécie que melhor se adapta ao clima brasileiro e seu extrato vem sendo amplamente utilizado devido as suas propriedades terapêuticas. O objetivo deste trabalho foi produzir o óleo da lavanda por meio de uma hidrodestilação e extração por fluido supercrítico, quantificar os extratos quanto aos compostos bioativos e avaliar os efeitos citotóxicos/antitumorais dos extratos em linhagem celular tumoral hepática humana Huh7.5, pelo teste do MTT. O extrato hidrodestilado apresentou rendimento de 0,96%, 74,97±10,22 mgEAG g⁻¹ de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante (IC₅₀) de 19,86 mg mL⁻¹, 24,09±3,05 µg g⁻¹ de carotenoides totais e atividade citotóxica/antitumoral para a maioria das concentrações acima de 200 µg mL⁻¹, nos tempos de 24, 48 e 72 horas. O extrato supercrítico apresentou rendimento de 1,68%, 161,32±34,75 mgEAG g⁻¹ de compostos fenólicos totais, IC₅₀ de 13,70 mg mL⁻¹, 377,27±12,06 µg g⁻¹ de carotenoides totais e atividade citotóxica/antitumoral para a maioria das concentrações acima de 50 µg mL⁻¹, nos tempos de 24, 48 e 72 horas. Os dados são promissores na utilização do extrato de lavanda com elevada quantidade de compostos bioativos e atividade anticâncer.

PALAVRAS-CHAVE: Câncer; Extração supercrítica; Hidrodestilação; *Lavandula*.

ABSTRACT

Originating in the Mediterranean, *Lavandula dentata* is the species that best adapts to the Brazilian climate and its extract has been widely used due to its therapeutic properties. The objective of this work was to produce lavender oil by means of hydrodistillation and extraction by supercritical fluid, to quantify the extracts for bioactive compounds and to evaluate the cytotoxic/antitumor effects of the extracts in human hepatic tumor cell line Huh7.5, by the MTT test. The hydrodistilled extract presented yield of 0.96%, 74.97±10.22 mgEAG g⁻¹ of total phenolic compounds, antioxidant activity (IC₅₀) of 19.86 mg mL⁻¹, 24.09±3.05 µg g⁻¹ of total carotenoids and cytotoxic/antitumor activity for most concentrations above 200 µg mL⁻¹, at 24, 48 and 72 hours. The supercritical extract presented yield of 1.68%, 161.32±34.75 mgEAG g⁻¹ of total phenolic compounds, IC₅₀ of 13.70 mg mL⁻¹, 377.27±12.06 µg g⁻¹ of total carotenoids and cytotoxic/antitumor activity for most concentrations above 50 µg mL⁻¹ at 24, 48 and 72 hours. The data are promising in the use of lavender extract with high number of bioactive compounds and anticancer activity.

KEYWORDS: Cancer; Supercritical extraction; Hydrodistillation; *Lavandula*.

INTRODUÇÃO

Atualmente, o câncer é a principal causa de morte no mundo e estima-se um crescimento mundial rápido da doença para as próximas décadas, formando uma barreira

¹ Voluntária do Programa Institucional Voluntário de Iniciação Científica. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil. E-mail: thais_svl@hotmail.com. ID Lattes: 7038840576772442.

² Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil. E-mail: pbressiani@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 6244294104014856.

³ Docente no Departamento Acadêmico de Engenharia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil. Email: irededalmolin@utfpr.edu.br. ID Lattes: 0667595639623212.

⁴ Docente no Departamento de Acadêmico de Química e Biologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil. E-mail: canteri@utfpr.edu.br. ID Lattes: 5210674056704542.

⁵ Docente no Departamento Acadêmico de Química e Biologia. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, Paraná, Brasil. E-mail: edusman@utfpr.edu.br. ID Lattes: 0834228211589445.



no aumento da expectativa de vida populacional (SUNG *et al.*, 2021). O Instituto Nacional do Câncer estimou que, dentre a população brasileira, ocorram cerca de 704 mil novos casos da doença para cada ano durante o triênio de 2023-2025, sendo o câncer de mama, próstata, pulmão e estômago os principais tipos da doença (INCA, 2022).

A utilização das plantas para fins medicinais existe há diversas civilizações e, com o avanço científico, tornou-se ampla a sua utilização no tratamento de doenças, incluindo o câncer. O uso de plantas é considerado um método alternativo e/ou complementar em relação as práticas convencionais, para tanto, passou por um processo regulamentar para normalizar a prática e garantir sua segurança e eficácia (ZARDETO-SABEC *et al.*, 2019).

A *Lavandula* sp., é um gênero pertencente à família *Lamiaceae* (FAHMY *et al.*, 2022), planta oriunda do Mediterrâneo (MARTINS *et al.*, 2019), seu extrato é conhecido por seus compostos aromáticos e propriedades terapêuticas que caracterizam ações analgésicas, sedativas, antioxidantes, entre outras (FELL *et al.*, 2021). No Brasil, a espécie que contém melhor adaptação ao clima é a *Lavandula dentata* (FIGUEIREDO *et al.*, 2021).

Com a biotecnologia, tornou-se possível a análise do comportamento das células vivas de um determinado tecido, animal e vegetal *in vitro*. Logo, técnicas de cultivo permitem a avaliação das células cancerígenas quanto a atividade citotóxica/antitumoral pelo teste do MTT, que analisa a proliferação e citotoxicidade no produto (MOSMANN, 1983).

Assim, o objetivo do presente estudo foi produzir e caracterizar o extrato da flor da *Lavandula dentata* e avaliar os efeitos citotóxicos/antitumorais dos compostos extraídos.

MATERIAIS E MÉTODOS

PREPARO DOS EXTRATOS

As flores da espécie *L. dentata* foram disponibilizadas pelo Lavandário Alfazenda Brasil localizado em Toledo – Paraná. A extração de seus compostos ocorreu por meio de hidrodestilação, via Clevenger, e por extração com fluido supercrítico.

O procedimento de hidrodestilação foi realizado em duplicata, em que as flores secas da lavanda foram imersas em 1 L de água destilada, em condições operacionais de pressão atmosférica e temperatura de ebulição do solvente, durante 3 horas, segundo El-Abdali *et al.* (2023). Para a produção do extrato supercrítico, as flores foram secas para conter até 18% de umidade, para que a água não seja arrastada durante a extração, competindo com o CO₂ pelos solutos. Posteriormente, as flores foram moídas para obtenção de partículas uniformes que permitem uma maior transferência de massa. O equipamento Spe-ed SFE foi ajustado em condições operacionais de 180 bar, 40 °C a uma vazão de $1,06 \cdot 10^{-4}$ kg s⁻¹ de CO₂ em fase estática e dinâmica, segundo Tyskiewicz *et al.* (2019) com modificações, o procedimento foi realizado em triplicata com a utilização do LASEFI na UNICAMP.

A quantificação dos compostos bioativos presente nos extratos ocorreram por análise colorimétrica de absorvância em espectrofotômetro UV-Vis, segundo a metodologia proposta por Singleton *et al.* (1999) para os compostos fenólicos totais. Também foram utilizadas as metodologias de Brand-Willians *et al.* (1995), com modificações, para a atividade antioxidante dos extratos em IC₅₀ (quantidade de amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH), e a metodologia de Rodriguez-Amaya (2001) para a quantificação dos carotenoides totais.



ATIVIDADE CITOTÓXICA

A linhagem celular tumoral hepática humana (Huh7.5) foi cultivada em frascos de cultura celular de 25 cm², contendo 10 mL de meio de cultura DMEM, suplementado com 15% de soro bovino fetal, e incubados em estufa de circulação de ar em condição padrão de 37 °C com 95% de ar umidificado e 5% de CO₂.

Para avaliação da atividade citotóxica/antitumoral usou-se o reagente MTT, como descrito por Mosmann (1983), com modificações. Utilizou-se placas de 96 poços, contendo células tumorais hepáticas humanas semeadas a 1x10⁴ por poço, com a adesão das células após 24 horas, o meio dos poços foi descartado para adição de 100 µL do novo meio contendo o tratamento, formado pelo controle negativo (meio de cultivo suplementado), agente citotóxico metil metanossulfonato (MMS – 500 µM) como controle positivo, o controle de solvente, e as diferentes concentrações dos extratos da lavanda (5, 10, 50, 100, 200, 300, 400, 500 e 1000 µg do extrato por mL de meio de cultura).

As células foram incubadas por 24, 48 e 72 horas. Após este período, o meio foi descartado para adição de 100 µL contendo 0,167 mg mL⁻¹ do concentrado de MTT e novamente incubados por 4 horas. Após esta incubação, o meio contendo MTT foi descartado para adição de 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) para solubilizar os cristais de formazan. Por fim, a absorbância foi medida por uma leitora de microplacas a 492 nm, utilizando o espectrofotômetro UV-Vis.

As análises do teste foram apresentadas como média e desvio padrão das absorbâncias, submetidas à análise de variância (*one way ANOVA*), seguida do teste de Dunnet (*p*<0,05), com o uso do software *Action Stat*. Os valores percentuais de viabilidade celular foram estimados pela razão entre a absorbância do tratamento e a absorbância do controle negativo.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A extração por hidrodestilação permitiu que os compostos voláteis da *L. dentata* fossem arrastados com a ebulição do solvente e se acumulassem na superfície da água. Este procedimento obteve um rendimento médio de 0,96±0,04%.

Para a extração supercrítica, as flores da lavanda obtiveram umidade de 11,1±0,14% em base úmida. As partículas das flores apresentaram um diâmetro maior que 1 mm (74,21%), diâmetro de partículas grandes, que garantiram a baixa presença de pó (finos) no leito de extração. O rendimento médio para este procedimento resultou em 1,68±0,04%.

O teor de compostos fenólicos totais para os extratos hidrodestilado e supercrítico da lavanda foram, respectivamente, de 74,97±10,22 e 161,32±34,75 mgEAG g⁻¹_{extrato}. Os compostos fenólicos desencadeiam ações antioxidantes, pois são capazes de retardar ou inibir a oxidação das moléculas geradas no metabolismo, neutralizando os radicais livres (REFOSCO *et al.*, 2019). Assim, os antioxidantes do extrato hidrodestilado e supercrítico apresentaram valores de IC₅₀ respectivos de 19,86 mg mL⁻¹ e 13,70 mg mL⁻¹. Devido aos metabólitos secundários, as plantas são ricas em antioxidantes que podem controlar/neutralizar os radicais livres no organismo humano (EL-ABDALI *et al.*, 2022).

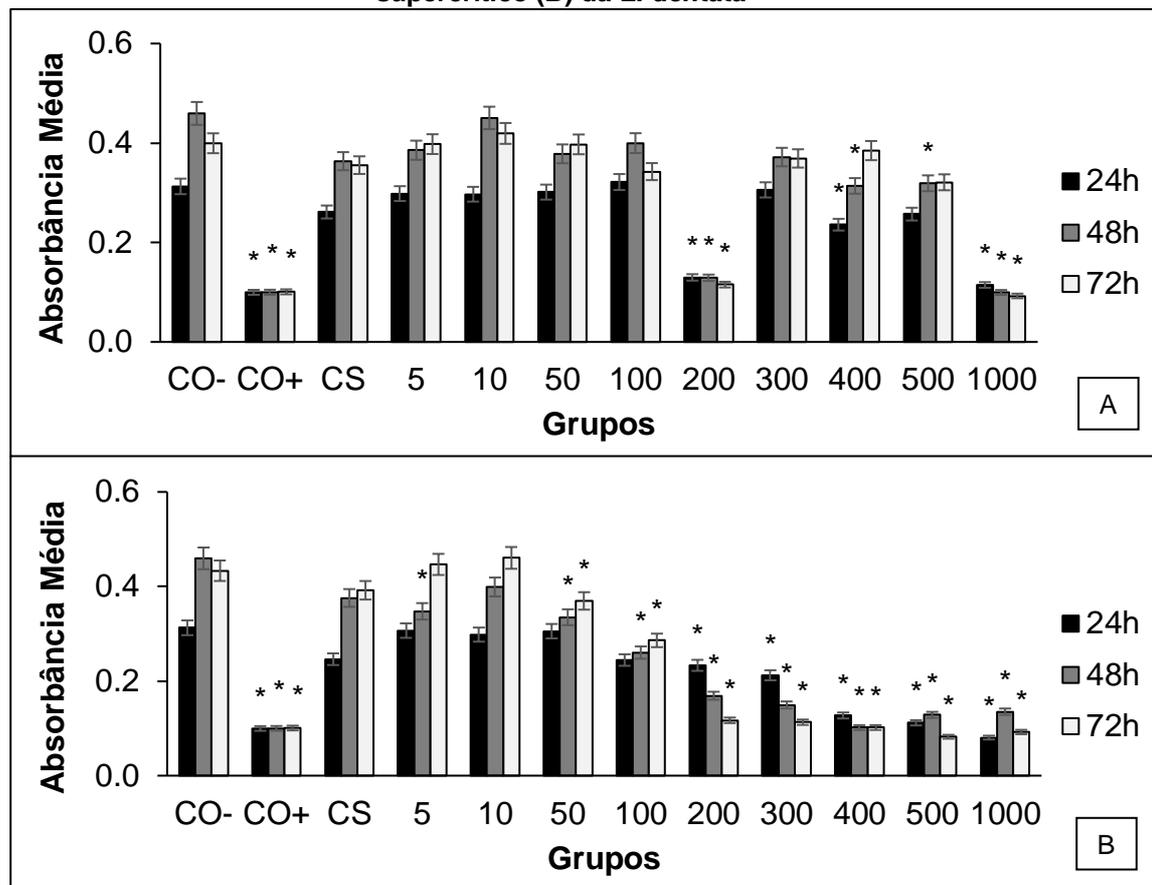
A quantificação dos carotenoides totais no extrato hidrodestilado e supercrítico foram respectivamente de 24,09±3,05 e 377,27±12,06 µg µ⁻¹. Foi notório por meio da coloração apresentada do extrato supercrítico, que este apresenta maiores quantidade de



carotenoides, resultado que está interligado a atividade antioxidante (MENDOZA-POUDEREUX *et al.*, 2015).

Os resultados para a atividade citotóxica/antitumoral dos extratos produzidos da *L. dentata* para a linhagem celular tumoral hepática humana estão apresentados na Figura 1.

Figura 1 – Absorbância média e desvio-padrão de células tumorais hepáticas humanas Huh7.5 tratadas por 24, 48 e 72 horas com as concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) do extrato hidrodestilado (A) e supercrítico (B) da *L. dentata*



CO-: Controle negativo; CO+: Controle positivo; CS: Controle solvente; 1×10^4 células por poço.
* Resultado estatisticamente diferente do controle negativo (Teste de Dunnet, $p < 0,05$).
Fonte: Autoria própria (2023).

Para o extrato hidrodestilado da lavanda (Figura 1 – A) a análise estatística demonstrou que nos tempos de 24, 48 e 72 horas as concentrações de 200 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ apresentaram absorbâncias médias inferiores à do controle negativo, com viabilidades celulares na faixa de 41,49% e 21,65%, indicando citotoxicidade e presença de atividade antitumoral. No tempo de 24 e 48 horas, a concentração de 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ também apresentou efeito citotóxico para a linhagem celular Huh7.5 e viabilidades celulares de 75,38% e 68,28%, respectivamente. Enquanto isso, no tempo de 48 horas, a concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ também apresentou citotoxicidade, com viabilidade celular de 69,42%.

Para o extrato supercrítico da lavanda (Figura 1 – B) a análise estatística demonstrou que para os tempos de 24, 48 e 72 horas, as concentrações de 200 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ apresentaram absorbâncias médias inferiores à do controle negativo, com viabilidades celulares na faixa de 74,58% e 21,29%. Para o tempo de 48 e 72 horas, as concentrações



de 50 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ também apresentaram efeito antiproliferativo, com viabilidades celulares que variaram de 85,27% e 56,64%. Para o tempo de 48 horas, a concentração de 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ também apresentou citotoxicidade, com viabilidade celular de 75,63%. De acordo com os resultados obtidos nota-se que ao aumentar a dose do tratamento, maior toxicidade obteve-se nas células, bem como ao decorrer do tempo, maior número de concentrações apresentaram citotoxicidade.

CONCLUSÃO

O estudo apresentou resultados esperados para a extração dos compostos voláteis da *L. dentata* e resultados promissores quanto a alta capacidade antioxidante, destacando o extrato supercrítico com maior rendimento e compostos bioativos. A avaliação da atividade citotóxica do extrato da *L. dentata* demonstrou ser promissora aplicada na linhagem celular tumoral hepática Huh7.5, pois houve indução de sua morte celular de acordo com a dose aplicada e tempo de exposição. Este efeito foi mais evidente com a aplicação do extrato supercrítico, por apresentar efeito citotóxico em dose menores e em diferentes tempos de exposição.

Agradecimentos

Agradeço a Universidade Estadual de Campinas pela disponibilidade do espaço para a realização deste estudo, a Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela oportunidade de participar do Programa Institucional Voluntário de Iniciação Científica e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela Bolsa Produtividade concedida à Profa. Dra. Elisângela Düsman (CNPq#305029/2022-3).

Conflito de interesse

Não há conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

EL-ABDALI, Y. *et al.* Antibacterial, Antioxidant, and in silico NADPH Oxidase Inhibition Studies of Essential Oil of *Lavandula dentata* against Foodborne Pathogens. **Evidence – Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2023, 2023.

EL-ABDALI, Y. *et al.* Lavandula dentata L.: Phytochemical analysis, antioxidant, antifungal and insecticidal activities of its essential oil. **Plants**, v. 11, n. 3, p. 311, 2022.

FAHMY, M. A. *et al.* Evaluation of the anti-cancer/anti-mutagenic efficiency of *Lavandula officinalis* essential oil. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 23, n. 4, p. 1215-1222, 2022.

FELL, A. P. W. *et al.* Composição química do óleo essencial das inflorescências da *Lavandula dentata* L. **Salão do Conhecimento**, Injuí, v. 7, n. 7, 2021.



FIGUEIREDO, A. R. *et al.* Morphological and phytochemical characterization of *Lavandula dentata* L. cultivated in Paraíba do Sul, Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Brasiliensis**, v. 5, n. 1, p. 7, 29 jan. 2021.

INCA - Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2023**: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro: INCA, 2022.

MARTINS, R. DE P. *et al.* Chemical characterization of *Lavandula dentata* L. essential oils grown in Uberaba-MG. **Ciencia Rural**, v. 49, n. 8, 2019.

MENDOZA-POUDEREUX, I. *et al.* Metabolic cross-talk between pathways of terpenoid backbone biosynthesis in spike lavender. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 15, p. 113-120, 2015.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 16 dez. 1983.

REFOSCO, E. K. *et al.* Compostos fenólicos na alimentação e seus benefícios para a saúde: Uma revisão de literatura. **Ciência Atual**, v. 13, n. 1, p. 2-9, 2019.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washintgon: ILSI press, 2001.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SUNG, H. *et al.* Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

TYSKIEWICZ, K.; KONKOL, M.; RÓJ, E. Supercritical carbon dioxide (scCO₂) extraction of phenolic compounds from lavender (*Lavandula angustifolia*) flowers: A box-behnken experimental optimization. **Molecules**, v. 24, n. 18, p. 3354, 2019.

ZARDETO-SABEC, G. *et al.* Plantas medicinais como alternativa no tratamento do câncer. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, Paraná, v. 27, n. 3, p. 75-80, 2019.