

Evaluación de los compuestos bioactivos del aceite de romero (*Rosmarinus officinalis L.*) como conservador alternativo

Isela Contreras-Hernández¹, Marco A. Castillo-Campohermoso², Erik Díaz-Cervantes^{1*}

¹Departamento de Alimentos, Centro Interdisciplinario del Noreste de la Universidad de Guanajuato, Tierra Blanca, Guanajuato C.P. 37975, México.

²Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA). REINIECYT 1602690. Departamento de Biociencias y Agrotecnología, Blvd. Enrique Reyna No. 140. Colonia San José de los Cerritos. Saltillo, Coahuila, México, C.P. 25294

*Correspondencia: i.contrerashernandez@ugto.mx

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló la evaluación de algunos de los compuestos bioactivos del aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis L.*), como una alternativa de conservación de alimentos. La evaluación de los compuestos se realizó con el software Molegro Virtual Docker. Se evaluaron los ligandos y el blanco biológico seleccionado (borneol deshidrogenasa de la *Salvia rosmarinus* con NAD⁺ como cofactor) para determinar el efecto antioxidante y antimicrobiano que tienen los compuestos. Específicamente se estuvo trabajando con las moléculas de acetato de bornilo, ácido carnosico, ácido rosmarico, alcanfor, alfa-pineno y carnosol (fitoquímicos del romero), los cuales interactuaron con el blanco biológico que fue el borneol deshidrogenasa de la *Salvia rosmarinus*. Se demostró que el acetato de bornilo tiene interacción más favorable, teniendo una eficiencia del ligando más negativa, respecto a los demás, -6.09 kcal/mol.

Palabras clave: Aceite de romero, Antioxidante, Ligandos, docking molecular.

ABSTRACT

In the present work, the evaluation of some of the bioactive compounds of the essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) was developed as an alternative for food preservation. The evaluation of the compounds was carried out with the Molegro Virtual Docker software. The ligands and the selected biological target (borneol dehydrogenase from *Salvia rosmarinus* with NAD⁺ as a cofactor) were evaluated to determine the antioxidant and antimicrobial effect of the compounds. Specifically, they were working with the molecules of bornyl acetate, carnosic acid, rosmarinic acid, camphor, alpha-pinene, and carnosol (phytochemicals from rosemary), which interacted with the biological target that was borneol dehydrogenase from *Salvia rosmarinus*. It was shown that bornyl acetate has a more favorable interaction, having a more negative ligand efficiency than the others, -6.09 kcal/mol.

Key words: Rosemary oil, Antioxidant, Ligands, molecular docking.

INTRODUCCIÓN

El romero (*Rosmarinus officinalis L.*) es una planta aromática perteneciente a la familia de las *Lamiaceae*. La planta de romero mide aproximadamente de 50 a 150 cm de altura, sus hojas pueden mediar hasta 3 cm de largo y 4 mm de ancho (Borges *et al.*, 2018).

Los principales principios activos se encuentran en las hojas de la planta. Las hojas contienen de 0,5 a 2,5% de aceite esencial (Elyemni *et al.*, 2019). Los compuestos que prevalecen en el aceite son flavonoides, terpenoides, monoterpenos, diterpenos y triterpenos (Ali *et al.*, 2019).

El aceite de romero se caracteriza por ser un líquido de color amarillento, transparente y no tan espeso que tiene un olor y sabor alcanforado (Basheer, 2018). Las hojas de romero están constituidas por monoterpenos como 1,8-cineol, alfa-pineno, alcanfor, alfa-terpineol, canfeno, borneol, acetato de bornilo, limoneno, linalol, mirceno, verbenona (Ali *et al.*, 2019).

El aceite de las hojas de romero es caracterizado por tener una alta actividad antimicrobiana. La actividad antimicrobiana de los extractos y aceite esencial del romero es principalmente atribuida a los siguientes compuestos: α -pineno, el acetato de bornilo, el alcanfor y el 1,8-cineol (Ebrahimi *et al.*, 2020).

El uso potencias antioxidante del extracto de romero ha permitido su uso de forma regular en el control de la oxidación de lípidos presentes en alimentos (Brown *et al.*, 2019). Al interrumpir las reacciones en cadena de los radicales libres, permite aplicaciones como conservante natural en alimentos (Huang *et al.*, 2020).

El conservante regularmente retarda y genera un poder antioxidante que evita cambios en los alimentos, generados principalmente por los microorganismos, enzimas y reacciones químicas (Angioni *et al.*, 2004).

La incorporación de dicho compuesto a a ciertos alimentos, como embutidos, tendrá fines antimicrobianos sin que este dañe negativamente las condiciones sensoriales, nutritivas y de calidad del producto final (Castano *et al.*, 2010).

Por otra parte, en el aspecto de evaluación antioxidante, tenemos que analiza las deshidrogenasas, las cuales son enzimas pertenecientes a la familia de las óxidorreductasas. Las oxidoreductasas catalizan reacciones donde una molécula dona electrones o átomos de hidrógeno y otra los recibe produciéndose un cambio en los estados de oxidación de ambas. Estas reacciones requieren la presencia de distintos tipos de coenzimas que se encargan de donar o aceptar los electrones y los átomos de hidrógeno que las oxidoreductasas añaden o quitan a sus sustratos.

El grupo del borneol deshidrogenasas (BDHs) pertenecen a la superfamilia de alcohol deshidrogenasas reductasas de cadena corta (SDRs). Algunos borneoles deshidrogenasas son capaces de catalizar reacciones de reducción.

Las deshidrogenasas de tipo borneol de cadena corta (BDH) conocidas de plantas carecen de la especificidad y estabilidad. La estructura tridimensional de la deshidrogenasa de cadena corta de tipo borneol es anantioespecífica, los estudios de acoplamiento conducen a la identificación de una bolsa hidrofóbica en las enzimas que juega un papel crucial en la discriminación estereoscópica de los monoterpenoides de tipo transmitido. La resolución cinética del borneol e isoborneol se pueden integrar fácilmente en la ruta sintética existente desde el Alfa-pineno hasta el alcanfor, lo que permite la síntesis fácil de monoterpenos ópticamente puros de una fuente renovable abundante (Beuchat, 2001).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron los compuestos bioactivos presentes en las hojas de romero con ayuda del programa Molegro Virtual Docker, las moléculas seleccionadas fueron seis, acetato de bormilo, ácido carnosico, ácido rosmarico, alcanfor, alfa-pineno y carnosol, las cuales se modelaron en el software Avogadro para posteriormente poder trabajar con ellas en el software Molegro virtual Docker. En este último se evaluarán las moléculas seleccionadas del aceite esencial de romero empleando como blanco biológico la borneol deshidrogenasa. Este blanco fue seleccionado debido a que las deshidrogenasas son enzimas capaces de catalizar la oxidación redox de un sustrato, involucrando NAD^+ , coenzimas que participan en el metabolismo redox, como moléculas transportadoras de electrones en los procesos metabólicos. El proceso fue el siguiente:

1. Se modelan las moléculas de los compuestos del romero en el software Avogadro.
2. El blanco biológico seleccionado se descargó del Protein Data Bank (PDB) y se realizó el acoplamiento molecular a través de la función de evaluación MolDock, con el software Molegro Virtual Docker (MVD).
3. Calibración y acoplamiento

Se lleva a cabo la calibración del blanco biológico con ayuda del software Molegro Virtual Docker. El blanco biológico seleccionado fue importado a Molegro virtual Docker en formato PDB, se inició preparando el blanco biológico con la detección de cavidades, posteriormente se seleccionó el ligando co-crystal (co-cristalizado en la proteína) y la cavidad con volumen de 242.176 \AA^3 para posteriormente realizar el Docking. Para la correcta calibración se emplearon 0.20 \AA en Grid resolution(A), y así obtener un valor de RMSD entre 0 y 2. Cuando se obtiene la primera calibración con el valor de RMSD entre el valor específico se realizó nuevamente una segunda corrida empleando el ligando co-crystal con los ligandos que son las moléculas de romero en cinco corridos cada uno, finalmente se obtuvieron los resultados en una tabla, los resultados son evaluados para determinar que ligando interactúa mejor con el blanco seleccionado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calibración

Al calibrar el blanco biológico, se obtuvo un $\text{RMSD}=1.55$, el cual se encuentra dentro del rango válido.

Docking Molecular

El acoplamiento molecular específico que se realizó con las moléculas en el sitio activo se muestra en la tabla 1 y en la Figura 1. La tabla muestra las interacciones de enlace hidrógeno, las energías electrostáticas, las energías de Van der Waals y la eficiencia del ligando (LE, por su acrónimo en inglés), el cual a valores más negativos es mejor, debido a que se traduce como la energía libre de Gibbs que aporta cada átomo del ligando a la interacción blanco-ligando. En esta tabla, interactuaron seis ligandos en cinco corridas cada uno, para así evaluar el mejor ligando acoplado en el blanco seleccionado.

La tabla 1 muestra que el Acetato de bormilo presentó la mejor eficiencia del ligando -6.09 kcal/mol . Gracias a su tamaño más pequeño y mejor energía de interacción, en términos termodinámicos.

Molécula	Energy	H Bond	Electro	VdW	LE
Acetato de bornilo	-85.31	-2.04	0.83	-28.19	-6.09
Ácido carnósico	-109.91	-8.15	0.00	-39.45	-4.57
Ácido rosmárico	-128.05	-16.67	-0.14	-31.80	-4.92
Alcanfor	-48.60	-5.00	0.00	-20.66	-4.41
Alfa-pineno	-56.05	0.00	-0.06	-21.16	-5.60
Carnosol	-96.72	-4.94	0.07	-38.56	-4.03
Co-crystal	-197.89	-25.26	-9.69	-12.02	-4.49

Tabla 1. Energías de interacción entre los ligandos modelados y el blanco biológico. HBond son las interacciones de enlace de hidrógeno, Electro son las energías electrostático, VdW indica la energía de Van der Waals y, LE es la eficiencia del ligando.

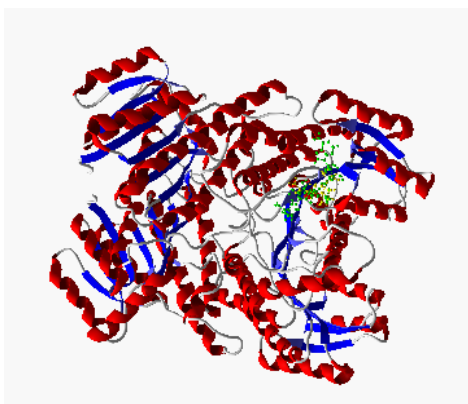
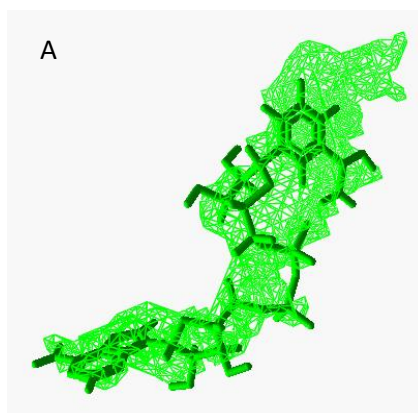


Fig.1. Acoplamiento del ligando co-crystal y el acetato de bornilo con la proteína.



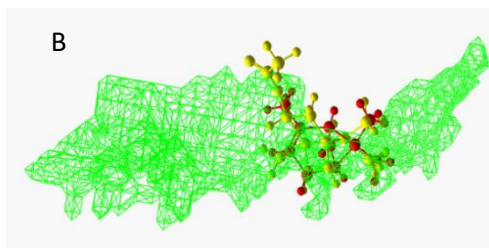


Fig.2. Sitio catalítico de la proteína (A) con el ligando co-crystal y (B) los dos mejores ligandos que interactúan en el sitio catalítico de la proteína.

En la figura 2 se muestran los principales ligandos estudiados en este trabajo, los cuales son candidatos a conservante, considerando que se tienen que hacer pruebas de oxidación a nivel mecanocuántico y posteriormente pruebas experimentales.

CONCLUSIÓN

De acuerdo a los resultados, el extracto de romero podría presentar capacidad antioxidante, al tener una alta interacción el acetato de bornilo con la oxidasa seleccionada, con valor de LE de -6.09kcal/mol. Esto nos lleva a considerar dicho extracto de romero como un prospecto en la conservación de alimentos, específicamente siendo antioxidante, proporcionando a la vez un olor y un sabor característico al producto y por ende mayor efectividad en las propiedades organolépticas del producto final.

BIBLIOGRAFÍA

- Ali, A., Chua, B. L. & Chow, Y. H. (2019). An insight into the extraction and fractionation technologies of the essential oils and bioactive compounds in *Rosmarinus officinalis* L.: Past, present and future. *Trends in Analytical Chemistry*, 188, 338-351.
- Angioni, A., Barra, A., Cereti, E., Barile, D., Coisson, J. D., Arlorio, M., Dessi, S., Coroneo, V & Cabras, P. (2004). Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *J Agr Food Chem.* 2004 (11): 3530 -3535.
- Basheer, A. I. (2018). Effect of alcoholic extract of rosmarinus against some type of enterobacteriaceae. *Tikrit Journal of Pure Science*, 23, 18-21.
- Beuchat, L.R. (2001). Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring antimicrobials. En: *Microbial Food Contamination*. Wilson CL, S Droby. (Ed.). CRC Press. London, UK. Chap. 11: 149-169.
- Borges, R. S., Sánchez, B. L., Matias, A. C., Keita, H. & Tavares, J. C. (2018). *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*, 229, 29-45.
- Brown, N., John, J. A. & Shahidi, F. (2019). Polyphenol composition and antioxidant potential of mint leaves. *Food Production, Processing and Nutrition*, 1(1): 1-14.

- Castano P, Hader I; Ciro G, Gelmy; Zapata M, José E & Jimenez R, Silvia L, (2010). Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de Rosmarinus Officinalis l. sobre algunas bacterias de interés alimentario. *SciELO*,17(2):149-154.
- Ebrahimi, E., Haghjou, M., Nematollahi, A. & Goudarzian, F. (2020). Effects of rosemary essential oil on growth performance and hematological parameters of young great sturgeon (*Huso huso*). *Aquaculture*, 521, 1-6.
- Elyemni, M., Louaste, B., Nechad, I., Elkamli, T., Bouia, A., Taleb, M., Chaouch, M. & Eloutassi, N. (2019). Extraction of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. by two different methods: Hydrodistillation and Microwave assisted hydrodistillation. *The Scientific World Journal*, 1-7.
- Hammer, K.A., Carson, C.F & Riley, T.V, (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86 (6): 985-990.
- Huang, M., Wang, H., Song, X & Zhou, G. (2020). Effects of nanoemulsion-based edible coatings with composite mixture of rosemary extract and ϵ -poly-Llysine on the shelf life of ready-to-eat carbonado chicken. *Food Hydrocolloids*, 102, 1-9.
- Sik, B., Hanczné, E. L., Kapcsándi, V. & Ajtony, Z. (2020). Conventional and nonconventional extraction techniques for optimal extraction processes of rosmarinic acid from six Lamiaceae plants as determined by HPLCDAD measurement. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 184, 1-8.