

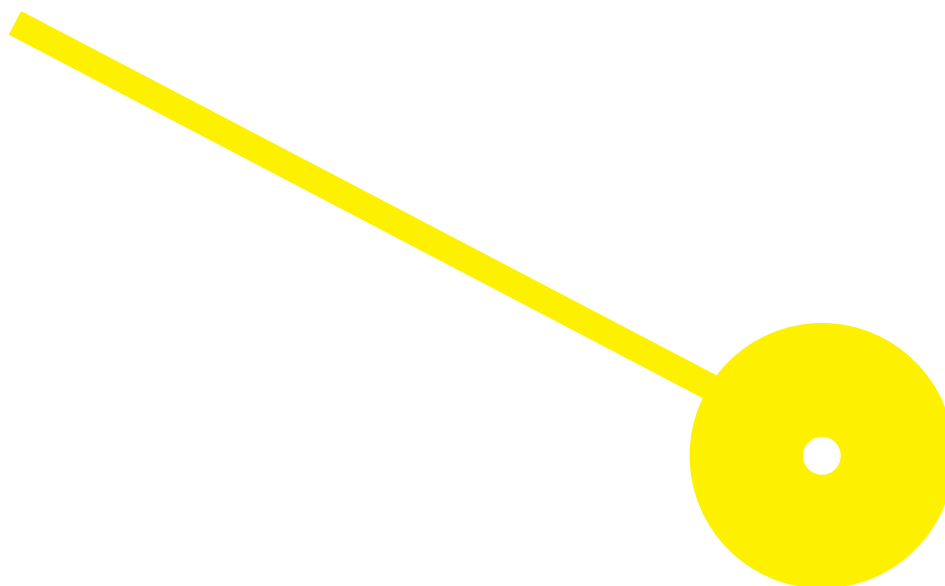
M

—
MESTRADO

FARMÁCIA: Especialização em Farmacoterapia e Farmacoepidemiologia

Potencial Aplicação Nutracêutica do
Dente-de-leão
(*Taraxacum hispanicum*)

03/2019





**Escola Superior de Saúde
Instituto Politécnico do Porto**

POTENCIAL APLICAÇÃO NUTRACÊUTICA DO DENTE-DE-LEÃO
(TARAXACUM HISPANICUM)

Dissertação submetida à Escola Superior de Saúde, do Politécnico do Porto (ESS-P.Porto) para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Farmácia – área de especialização em Farmacoterapia e Farmacoepidemiologia, realizada sob a orientação científica da Prof. Doutora Cláudia Marta Libreiro de Pinho e co-orientação da Prof. Doutora Ana Isabel de Freitas Tavares de Oliveira.

CÁTIA ANDREIA LEÇA LARANJEIRA

Agradecimentos

A realização desta dissertação de mestrado contou com importantes apoios e incentivos sem os quais não seria possível a sua realização e aos quais estarei eternamente grata.

À Prof. Doutora Cláudia Pinho e Prof. Doutora Ana Isabel Oliveira pela orientação e co-orientação, total apoio, disponibilidade, prontidão na resolução de obstáculos, pelas opiniões e críticas, paciência, entusiasmo e por todos os conhecimentos que me transmitiram.

À ESS pela disponibilização de todo o equipamento, material, reagentes e espaço para a realização de todos os ensaios.

Ao meu companheiro e namorado, João Morais, pela força, apoio e companheirismo nos momentos difíceis e pelo entusiasmo nas conquistas.

Por último, dirijo um agradecimento especial aos meus pais, por serem o meu apoio incondicional, incentivo, paciência e por estarem sempre presentes nesta longa caminhada. A eles dedico este trabalho!

RESUMO

O uso de recursos naturais, de origem vegetal, desempenha um papel importante na descoberta e desenvolvimento de potenciais compostos com ação terapêutica. As plantas têm sido amplamente utilizadas por pessoas de todas as culturas para o tratamento de diferentes doenças. O termo nutracêutico é aplicado a produtos que são isolados de plantas, suplementos alimentares, dietas específicas e alimentos processados, que são utilizados não apenas com funções nutritivas, mas também com funções terapêuticas. Trata-se de uma categoria de produtos pouca regulamentada, com definições não consensuais, mas que tem sido alvo de grande pesquisa nos últimos anos, representando um segmento de mercado com crescimento rápido. São muitas as plantas atualmente estudadas com propriedades nutracêuticas e, como tal, esta tese apresenta o seu principal foco na avaliação do potencial nutracêutico do *Taraxacum hispanicum*, uma espécie conhecida como dente-de-leão, e ainda pouco estudada dentro do gênero. Para tal, foi determinado o perfil fitoquímico dos extratos aquosos e hidroalcoólicos das folhas da planta, assim como o seu teor de compostos fenólicos. Seguidamente, e sabendo que as plantas do gênero *Taraxacum* apresentam uma potente atividade antioxidante, estudou-se a influência de diferentes variáveis no processo extrativo, como o efeito dos solventes, o tamanho das partículas, a temperatura e tempos de extração na sua atividade antioxidante.

A espécie *T. officinale* é a mais estudada do gênero e a mais consumida, tanto como alimento como na medicina tradicional. Esta planta encontra-se aprovada para tratamento de alterações no fluxo biliar, estimulação da diurese, perda de apetite e dispepsia no caso das raízes, e perda de apetite, dispepsia (enfartamento e flatulência), no caso das folhas, sendo que novos estudos evidenciam a sua ação no tratamento e prevenção de vários tipos de cancro. Apesar de existirem vários estudos relativos à caracterização da espécie *T. officinale*, são praticamente inexistentes os estudos com a identificação do perfil fitoquímico e da atividade antioxidante da espécie *T. hispanicum*. O perfil fitoquímico do *T. hispanicum* foi semelhante ao encontrado em outras espécies do gênero *Taraxacum*, demonstrando resultados positivos para os polifenóis, flavonóides, taninos e diterpenos, em ambos os extratos estudados. Também a ausência de triterpenos nas amostras estudadas encontra-se de acordo com o previsto. No caso dos

compostos fenólicos, saponinas e alcalóides os resultados foram diferentes em ambos os extratos (aquoso e hidroalcoólico), apresentando um resultado positivo apenas no extrato hidroalcoólico.

Quanto à análise das diferentes variáveis na atividade antioxidante do extrato de folhas de dente-de-leão (*T. hispanicum*), recorrendo a diferentes ensaios antioxidantes, como o DPPH, a quelação de Fe^{2+} e o ensaio do radical superóxido, observou-se, pelos valores de IC_{50} , que a utilização de água destilada, tamanhos reduzidos das partículas (em pó), temperaturas baixas (60 °) e tempos mais prolongados de extração (20 minutos) parecem influenciar a atividade antioxidante da planta em estudo.

De modo geral, os resultados observados nesta tese providenciam uma importante base para estudos futuros, no sentido de permitir uma melhor compreensão do perfil fitoquímico da espécie *T. hispanicum* e do efeito de diferentes variáveis nos procedimentos extrativos da planta. Estes resultados são importantes para que possamos optar no futuro por procedimentos que nos permitam uma maior eficiência na extração de compostos ativos e, conseqüentemente, uma maior atividade antioxidante.

ABSTRACT

The use of natural resources of plant has an important role in the discovery and development of potential substances with therapeutic action. Plants have been widely used by people of all cultures for the treatment of different diseases. The term nutraceutical is applied to products that are isolated from plants, food supplements, specific diets and processed foods, which are used not only with nutritional functions but also with therapeutic functions. This is a poorly regulated product category with non-con-sensual definitions, but, yet, has been the subject of considerable research in recent years, representing a fast-growing market segment. Nowadays, there is a lot of plants studied with nutraceutical proprieties, therefore, this thesis presents the principal focus in the evaluation of the nutraceutical potential of *Taraxacum Hispanicum*, a specie known as Dandelion, and one of the least studied in its gender. For this, was analyze the phytochemical profile of the aqueous and hydroalcoholic extracts from the leaves and the influence of different extractive process variables, such as the effect of the solvents, particle size, temperature and times in antioxidant activity.

The *T. officinale* species is the most studied of the genus and the most consumed, both as food and in traditional medicine. This plant is approved for treatment of alterations in the bile flow, stimulation of diuresis, loss of appetite and dyspepsia in the case of roots and loss of appetite, dyspepsia (flatulence) in the case of leaves, since new studies its action in the treatment and prevention of various types of cancer. Although there are several studies concerning the characterization of the *T. officinale* species, there are practically no studies with the identification of the phytochemical profile and the antioxidant activity of the *T. hispanicum* species. The determination of the phytochemical profile of *T. hispanicum* was similar to found in other species of the genus *Taraxacum*, showing positive results to the polyphenols, flavonoids, tannins and diterpenes, in both extracts studied. Also the inexistence of triterpenes in the studied samples is in agreement with the predicted. In the case of the phenolic compounds, saponins and alkaloids the results were different in both extracts (aqueous and hydroalcoholic), presenting a positive result only in the hydroalcoholic extract.

As for the analysis of the different variables in the antioxidant activity of the leaf extract of dandelion (*T. hispanicum*), using different antioxidant assays such as

DPPH, that of Fe^{2+} and the superoxide radical assay. It was observed that the use of distilled water, reduced particle sizes (powder), low temperatures (60 °C) and longer extraction times (20 minutes) appeared to influence the antioxidant activity of the plant under study.

In general, the results observed in this thesis provide an important basis for future studies in order to allow a better understanding of the phytochemical profile of the *T. hispanicum* species and the effect of different variables on the plant extractive procedures. These results are important so that we can opt in the future for procedures that allow us a greater efficiency in the extraction of active compounds and, consequently, a greater antioxidant activity.

ÍNDICE

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
ÍNDICE	ix
LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS E SIGLAS	xiii
ÍNDICE DE TABELAS	xvii
ÍNDICE DE FIGURAS	xix
INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I Revisão Bibliográfica	5
1.1. Plantas Medicinais, Nutrição e Terapêutica	7
1.2. Dente-de-Leão (<i>Taraxacum sp.</i>)	8
1.2.1. Descrição	8
1.2.2. Composição Química	9
1.2.3. Uso Tradicional e Atividades Biológicas	11
1.2.3.1. Atividade Anti-inflamatória	12
1.2.3.2. Atividade Antidiabética.....	12
1.2.3.3. Atividade Anticancerígena	13
1.2.3.4. Atividade Antimicrobiana	14
1.3. Stress oxidativo e Defesas Antioxidantes	15
1.3.1. Espécies reativas de oxigénio	16
1.3.2. Defesas Antioxidantes	17
1.4. As Plantas Como Agentes Antioxidantes	20

1.4.1.	Nutracêuticos e Suplementos Alimentares.....	21
1.4.2.	Classificação de nutracêutico	22
1.4.2.1.	<i>Fibras dietéticas</i>	22
1.4.2.2.	<i>Probióticos e Prebióticos</i>	23
1.4.2.3.	<i>Ácidos gordos polinsaturados (PUFAS)</i>	24
1.4.2.4.	<i>Vitaminas Antioxidantes e Carotenóides</i>	24
1.4.2.5.	<i>Especiarias</i>	25
1.4.2.6.	<i>Polifenóis</i>	25
1.5.	Referências.....	25

CAPÍTULO II Perfil fitoquímico de extratos aquosos e hidroalcoólicos de folhas do <i>Taraxacum hispanicum</i>	39
Resumo	41
Abstract	43
2.1. Introdução	45
2.2. Métodos	46
2.2.1. Reagentes	47
2.2.2. Recolha da planta e preparação dos extratos.....	47
2.2.3. Caracterização fitoquímica dos extratos de <i>T. hispanicum</i>	47
2.2.3.1. <i>Compostos fenólicos</i>	48
2.2.3.2. <i>Polifenóis</i>	48
2.2.3.3. <i>Flavonóides</i>	48

2.2.3.4.	<i>Taninos</i>	48
2.2.3.5.	<i>Saponinas</i>	48
2.2.3.6.	<i>Terpenóides</i>	49
2.2.3.7.	<i>Diterpenos</i>	49
2.2.3.8.	<i>Triterpenos</i>	49
2.2.3.9.	<i>Alcalóides</i>	49
2.2.4.	Determinação do teor de Compostos Fenólicos	50
2.3.	Resultados e Discussão	50
2.4.	Conclusão	54
2.5.	Referências	54
CAPÍTULO III Efeito dos solventes, tamanho das partículas, tempos e temperaturas de extração na atividade antioxidante do <i>Taraxacum hispanicum</i>		
		59
RESUMO		61
Abstract		63
3.1.	INTRODUÇÃO	65
3.2.	MATERIAL E MÉTODOS	66
3.2.1.	Reagentes	66
3.2.2.	Material Vegetal e Preparação dos Extratos	67
3.2.3.	Fatores estudados	67
3.2.4.	Determinação da Atividade Antioxidante	68
3.2.4.1.	<i>Ensaio do Radical DPPH</i>	68

3.2.4.2.	<i>Ensaio de quelação do Fe²⁺</i>	69
3.2.4.3.	<i>Ensaio do radical superóxido</i>	69
3.3.	Resultados.....	70
3.4.	Discussão.....	72
3.5.	Conclusão.....	77
3.6.	Referências.....	78
CONCLUSÃO	85
Limitações do Estudo	88
Perspetivas Futuras	89

LISTA DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS E SIGLAS

ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
ALA	Ácido α -linolénico
AMPK	Proteína cinase ativada-AMP
ARA	Ácido Araquidónico
CAT	Catalase
COX-2	Ciclooxigenase-2
CUPRAC	<i>CUPric Reducing Antioxidant Capacity</i>
DHA	Ácido Docosahexanóico
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
EPA	Ácido Eicosapentanóico
FRAP	<i>Ferric Reducing Ability of Plasma</i>
GI	Gastrointestinal
GLA	Ácido γ -linolénico
GPox	Glutaciona Peroxidase
GR	Glutaciona Redutase
GSH	Glutaciona
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HCT116	Linhagem de Cancro do Cólon
HepG2	Linhagem de Hepatocarcinoma Humano
HODE	Ácido Gordos Monohidroxi racémicos

Hs27	Células de Fibroblastos
HSP	Proteínas de Choque Térmico
IL- α	Interleucina- α
INS-1E	Insulinoma de Rato
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LNCaP	Linhagem de Cancro da Próstata
LOO [*]	Radicais Peroxilo
LOOH	Lípidos Hidroperóxidos
LPS	Lipopolissacáridos
MAPK	Proteína Cinase Ativada por Mitogénio
MCF-7	Linhagem de Cancro da Mama
MDA	Metilenedioxianfetamina
MIC	Concentração Mínima Inibitória
NADH	Dinucleótico de Nicotinamida e Adenina
NBT	Azul de Nitrotetrazólico
NF- κ B	Fator Nuclear Kappa B
NOS	Óxido Nítrico Mitocondrial
NSP	Polissacarídeos não-amiláceos
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORAC	<i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>
PMS	Metassulfato de Fenazina
PUFAS	Ácidos Gordos Polinsaturados
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral- α

RNS	Espécies Reativas de Azoto
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SOD	Superóxido Dismutase

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo I

Tabela I. Compostos presentes em diferentes espécies do género *Taraxacum* __11

Capítulo II

Tabela I. Perfil fitoquímico para os extratos estudados de *T. hispanicum*. _____51

Tabela II. Total de compostos fenólicos para os dois extratos de *T. hispanicum* analisados. _____53

Capítulo III

Tabela I. Fatores e procedimentos estudados dos compostos do *T. hispanicum* __67

Tabela II. Valores de IC₅₀ (µg/mL) para o *T. hispanicum*. _____70

Tabela III. Valores de IC₅₀ dos controlos positivos. _____71

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo I

Figura I. *Taraxacum hispanicum* _____ 8

Figura II. Estruturas químicas dos compostos mais representativos do género *Taraxacum* _____
_____ 10

Figura III Exemplos das principais reações que envolvem ROS e RNS. _____ 17

Figura IV. Fontes extracelulares e intracelulares para a produção de ROS. _____
_____ 18

Figura V. Sistemas celulares antioxidantes que atuam contra as espécies reativas. ____ 19

INTRODUÇÃO

O uso de recursos naturais de origem vegetal desempenha um papel importante na descoberta e desenvolvimento de potenciais substâncias com ação terapêutica. As plantas têm sido amplamente utilizadas por pessoas de todas as culturas para o tratamento de diferentes doenças (Lateef e Issah, 2012).

Após análise dos medicamentos colocados no mercado entre 1981 e 2002, concluiu-se que 28% destes medicamentos possuem princípios ativos isolados de produtos naturais ou foram obtidos por um processo de semi-síntese, ao passo que 24% são sintéticos, mas baseados em estruturas de produtos naturais. Desta forma, os produtos naturais constituem a base do desenvolvimento de muitos novos medicamentos e suplementos alimentares (Brandão et al., 2010).

O termo nutracêutico é aplicado a produtos que são isolados de plantas, suplementos alimentares, dietas específicas e alimentos processados, que são utilizados não apenas com funções nutritivas, mas também com funções terapêuticas (Kalra, 2003). Os nutracêuticos podem ser utilizados para melhorar a saúde, retardar o processo de envelhecimento, prevenir doenças crônicas, ou aumentar a esperança média de vida (Zhao, 2007). Estudos recentes têm demonstrado resultados promissores para os nutracêuticos em diversas patologias, como as doenças cardiovasculares (Khosravi-Boroujeni et al., 2013), o cancro e as desordens neurológicas (Das et al., 2012). Estas condições podem envolver um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e as defesas antioxidantes, sendo que a maioria dos nutracêuticos tem atividade antioxidante com capacidade para melhorar esta situação (Nasri et al., 2014).

A procura por novas opções terapêuticas com ação antioxidante e que possam funcionar como agentes quimiopreventivos tem aumentado nos últimos anos a fim de encontrar tratamentos mais efetivos ou que visem o retardar do avanço das doenças. As plantas do género *Taraxacum* são membros da família Asteraceae. Podem encontrar-se em zonas temperadas mais quentes do Hemisfério Norte. O género *Taraxacum* inclui aproximadamente 30 a 57 variedades. As folhas e raízes de algumas espécies deste género *Taraxacum*, conhecidas como dente-de-leão, são tradicionalmente consumidas

como alimento, sendo também empregues de forma medicinal face às suas propriedades coleréticas, diuréticas, antitumorais, antioxidantes, anti-inflamatórias e hepatoprotetoras (Colle et al., 2012).

A espécie *T. officinale* é a mais estudada do género e parece ser a mais consumida, tanto como alimento, como na medicina tradicional. As folhas desta planta são consideradas uma importante fonte alimentar com potencial nutritivo, podendo melhorar as condições nutricionais da população, em áreas com reduzidos recursos económicos (Escudero et al., 2003). De acordo com a monografia da planta pela Comissão E Alemã, esta encontra-se aprovada para tratamento de alterações no fluxo biliar, estimulação da diurese, perda de apetite e dispepsia no caso das raízes e perda de apetite, dispepsia (enfartamento e flatulência) no caso das folhas (Proença, Silva, e Roque, 2003). No entanto, estudos referem que a planta poderá ser benéfica no tratamento e prevenção de vários tipos de cancro, face à sua potencial atividade anticancerígena, quimiopreventiva e antioxidante (Hu e Kitts, 2005; Jeon et al., 2008; Koo et al., 2004; Sigstedt et al., 2008).

O extrato etanólico do *T. officinale* é capaz de reduzir os níveis de ROS, a produção de óxido nítrico (NO) e inibir a cicloxigenase-2 (COX-2) podendo, assim, apresentar-se como anticancerígeno, anti-angiogénico e também antinociceptivo (Jeon et al., 2008). Por sua vez, os extratos da flor do *T. officinale* também já foram testados em células de macrófagos, resultando numa inibição da produção de NO, inibição das ROS e de espécies reativas de azoto (RNS). Todas estas ações foram atribuídas aos componentes fenólicos presentes na planta (Hu e Kitts, 2005). Num outro estudo, o extrato aquoso das folhas inibiu a proliferação celular em células de cancro da mama (MCF-7) e bloqueou a invasão celular em células de cancro da próstata (LNCaP). O extrato aquoso da raiz bloqueou a invasão celular em células MCF-7 (Sigstedt et al., 2008). De acordo com um estudo de Koo et al., (2004), o extrato de *T. officinale* foi testado em células de hepatocarcinoma humano (HepG2), onde se verificou uma redução na viabilidade celular e indução da citotoxicidade através da interleucina- α (IL- α) e do fator de necrose tumoral- α (TNF- α)(Koo et al., 2004).

Os tecidos vegetais do dente-de-leão contêm flavonóides, cumarinas, ácidos fenólicos e derivados, triterpenos, esteróides e lactonas sesquiterpénicas (Kisiel e

Barszcz, 2000). Os principais componentes dos extratos incluem as lactonas sesquiterpénicas e os fenilpropanóides, que parecem ter propriedades antioxidantes e anticancerígenas, explicando muitos dos efeitos observados com a planta (Yarnell e Abascal, 2009). No entanto, como o *T. officinale* não se encontra presente no sul da Europa, outras espécies têm vindo a ser estudadas, como o *T. hispanicum*. São ainda escassos os estudos com esta espécie. Sabe-se, no entanto, que a composição química é muito semelhante à de *T. officinale* (Mingarro et al., 2015), podendo esta espécie também ter atividade antioxidante e conseqüentemente, vir a ser um potencial nutracêutico.

De facto, um estudo recente de Mingarro et al., (2015) demonstrou que todos os extratos estudados de espécies de *T. obovatum*, *T. marginellum*, *T. hispanicum*, *T. lambinonii*, e *T. lacistrum* demonstraram uma capacidade *scavenging* do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Mingarro et al., 2015). Num outro estudo, observou-se que o extrato etanólico do *T. hispanicum* demonstrou ter uma melhor atividade antioxidante e citoprotetora, em comparação com o extrato aquoso (Laranjeira et al., 2017).

A procura de antioxidantes naturais não tóxicos e efetivos tem aumentado nos últimos anos, uma vez que os antioxidantes sintéticos têm vindo a ser associados a um aumento dos fatores de risco em várias doenças (Mingarro et al., 2015). Como tal, o presente trabalho apresenta como principal objetivo avaliar a potencial aplicação nutracêutica do dente-de-leão (*T. hispanicum*), determinando o seu perfil fitoquímico e atividade antioxidante de diferentes extratos de folhas da planta.

A presente dissertação de Mestrado encontra-se dividida em quatro capítulos. O capítulo I diz respeito à revisão bibliográfica do tema em questão onde serão abordados aspetos relativos à planta a estudar, o *T. hispanicum*, nomeadamente quanto à sua descrição, compostos químicos, uso tradicional e atividades biológicas; aspetos relacionados com o stress oxidativo e as defesas antioxidantes; e por fim aspetos sobre as plantas como agentes antioxidantes e o seu potencial papel como nutracêuticos. O capítulo II diz respeito ao primeiro artigo da dissertação, intitulado: “Perfil fitoquímico de extratos aquosos e hidroalcoólicos de folhas de dente-de-leão”. O capítulo III refere-se ao segundo artigo da dissertação intitulado: “Efeito dos solventes, tamanho das partículas, tempos e temperaturas de extração na atividade antioxidante do dente-de-leão (*T. hispanicum*)”. Por fim, o capítulo IV corresponde à conclusão do trabalho.

CAPÍTULO I

Revisão Bibliográfica

1.1. Plantas Medicinais, Nutrição e Terapêutica

A utilização de plantas para tratamento, cura e prevenção de doenças é uma das práticas medicinais mais antigas. A Fitoterapia tem ganho importância não só pelo seu uso tradicional, mas também pelo aumento das evidências científicas, da melhoria da qualidade, eficácia e segurança das plantas medicinais (Proença, Silva e Roque, 2003).

Alguns estudos epidemiológicos que relacionam os hábitos alimentares e o risco de desenvolvimento de doença têm demonstrado que a alimentação atua diretamente sobre a saúde, podendo ter um impacto positivo, promovendo-a e conferindo proteção contra certas patologias. Do mesmo modo, pode apresentar um impacto negativo, induzindo o aparecimento de outras doenças. Por exemplo, uma alimentação rica em peixe e produtos ricos em ácidos gordos polinsaturados das famílias ómega 3 e ómega 6 está associada a um baixo nível de problemas cardiovasculares. Por sua vez, populações que apresentam um elevado consumo de soja, que contém fitoestrogénios, estão associados a uma baixa incidência de cancro da mama (Espín et al., 2007; Moraes e Colla, 2006). Deste modo, a investigação sobre o impacto positivo da alimentação na saúde humana tem aumentado. Componentes potencialmente ativos de plantas, utilizados diretamente na alimentação, na preparação de infusões ou como plantas aromáticas, têm sido intensamente estudados. Os resultados sugerem que os polifenóis, principalmente os flavonóides presentes em muitas frutas e vegetais têm um elevado poder antioxidante, sendo capazes de proteger as células contra os efeitos adversos das ROS (Dufresne e Farnworth, 2001), apresentando ainda outras atividades como anti-inflamatória ou antimicrobiana (Jeon et al., 2008).

A procura, por parte dos consumidores, de produtos alimentares promotores de saúde, bem como de produtos dietéticos e farmacêuticos, com compostos bioativos está a aumentar. Muitos dos constituintes bioativos presentes nos alimentos são comercializados atualmente sob a forma de comprimidos, cápsulas, soluções, geles, pós, granulados, que incorporam extratos de produtos naturais com funções fisiológicas benéficas. Como designação deste género de produtos que não são verdadeiramente alimentos, surgiu a designação de nutracêutico. Este termo deriva da junção de “nutrition” e “pharmaceutical”, em português, nutrição e fármaco, respetivamente (Brower, 1998).

1.2. Dente-de-Leão (*Taraxacum sp.*)

1.2.1. Descrição

O dente-de-leão pertence ao género *Taraxacum* e à família Asteraceae, sendo uma planta amplamente distribuída no Hemisfério Norte (Schütz et al., 2006). Inclui quase 2500 espécies; as folhas e raízes de algumas espécies são tradicionalmente consumidas como alimento e são usadas na medicina popular devido ao seu efeito coléretico, diurético, antitumoral, antioxidante, anti-inflamatório e hepatoprotetor (Colle et al., 2012).

Das plantas do género *Taraxacum*, destaca-se o *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F.H. Wigg, uma planta não presente no sul da Europa (Galán de Mera, 2013), mas das mais estudadas em todo o mundo. No entanto, outras espécies têm vindo a ser estudadas na região da Península Ibérica, nomeadamente o *T. hispanicum* (Laranjeira et al., 2017) (Figura I).



Figura I. *Taraxacum hispanicum*

Toda a planta pode ser utilizada (folhas, flores e raízes) e incorporada em diversos produtos alimentares, uma vez que se trata de uma planta cuja análise de nutrientes revela a presença de elevadas quantidades de minerais, proteínas, fibras e vitaminas. Comparando com outros alimentos, o dente-de-leão possui 1,5% de lípidos (peso total) e proporções maiores de ácidos gordos insaturados (ácido oleico, linoleico, linolénico) que as alfaces e os espinafres. É também uma das principais fontes de β -caroteno (Shi

et al., 2008; Souci et al., 2008). As folhas mais jovens da planta são habitualmente consumidas em saladas, juntamente com outras plantas. Adicionalmente, as folhas secas podem ser utilizadas em muitas bebidas digestivas e dietéticas. As raízes torradas podem ser utilizadas como substitutas do café. Por sua vez, as flores são usadas na produção de vinhos e sobremesas e alguns extratos são utilizados para aromatizar produtos alimentares, como doces, gelatinas e queijos (Leung e Foster, 1996; Rivera-Núñez et al., 1991).

1.2.2. Composição Química

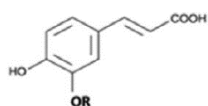
A maioria dos estudos científicos têm sido realizados na espécie *T. officinale*, onde se destacam as suas propriedades antioxidantes (Hu e Kitts, 2005; Hudec et al., 2007; Jeon et al., 2008) e o seu elevado valor nutricional (Escudero et al., 2003).

As diferenças relativas à composição química das diferentes espécies do género *Taraxacum* são ainda vagas. No entanto, sabe-se que os tecidos vegetais da espécie *T. officinale* incluem lactonas sesquiterpénicas, flavonóides, cumarinas, ácidos fenólicos e seus derivados, triterpenos e esteróides (Mingarro et al., 2015). Os flavonóides e derivados do ácido cinâmico foram também identificados nas flores do *T. officinale* (Hu e Kitts, 2005), assim como taninos e alcalóides. Os oligoelementos com maior concentração são o potássio, cálcio, sódio e ferro e com menor concentração o zinco, cádmio e o cobre (Jassim et al., 2012). Em comparação com as raízes, as folhas apresentam um maior teor de compostos fenólicos. Desta forma, as folhas e flores são ricas em derivados do ácido hidroxicinâmicos, como os ésteres do ácido cafeico (ácido clorogénico e ácido chicórico) (Budzianowski, 1997; Williams et al., 1996). Outros compostos presentes incluem ainda a biotina, o inositol e as vitaminas B, D, e E (Jassim et al., 2012).

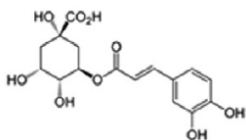
Quanto às raízes, estas contêm hidratos de carbono (ex.: inulina, glucose, frutose, sacarose), carotenóides (ex.: luteína), ácidos gordos (ex.: ácido mirístico), minerais, colina, vitaminas, mucilagem e pectinas. Cerca de 45 % das raízes são constituídas por inulina, um hidrato de carbono complexo com efeitos benéficos na eliminação de agentes patogénicos do trato gastrointestinal (GI), no controlo da obesidade, cancro e na osteoporose (Roberfroid, 1999). As raízes são ainda importantes fontes de triterpenos

e esteróides (Hata et al., 2000), compostos amargos (germacranólidos e taraxacósidos) e diversos compostos fenólicos (Proença, Silva e Roque, 2003). A Figura seguinte evidênciam alguns dos principais compostos presentes no género *Taraxacum* (Figura II).

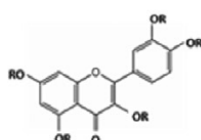
Ácidos Fenólicos e Flavonóides



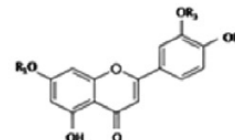
Ácido cafeico $R_1 = OH$
Ácido *p*-cumárico
 $R_1 = H$



Ácido clorogénico

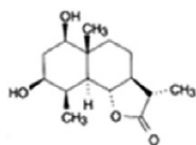


Quercetina glicósido
 $R = H$

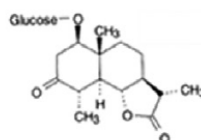


Luteolina $R_1 = R_2 = R_3 = H$
Luteolina-7-O-rutinosido
 $R_1 = Rut; R_2 = H$
Luteolina-7-O-glucósido
 $R_1 = Glc; R_2 = H$
Luteolina-4'-O-glucósido
 $R_2 = Glc; R_1 \text{ e } R_3 = H$

Lactonas Sesquiterpénicas

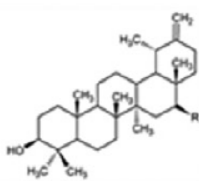


Tetrahidroridentina B

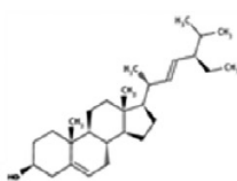


Taraxacolido-β-D-glucósido

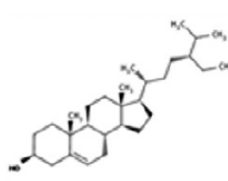
Triterpenos e Fitoesteróis



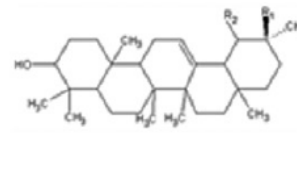
Taraxasterol $R = H$



Stigmasterol



β-sitosterol



β-amirina $R_1 = CH_3, R_2 = H$
α-amirina $R_1 = H, R_2 = CH_3$

Figura II. Estruturas químicas dos compostos mais representativos do género *Taraxacum*.

(Adaptado de González-Castejón et al., 2012).

No que diz respeito à composição química de outras espécies de dente-de-leão, a tabela seguinte evidêcia a presença ou ausência de alguns compostos nas seguintes espécies: *T. obovatum*, *T. marginellum*, *T. hispanicum*, *T. lambinonii*, *T. lacistrum* (Tabela I). No caso do *T. hispanicum* foram analisados alguns extratos onde se identificou a luteolina-7-glicósido, rutina, hesperidina, luteolina, apigenina, ácido cafeico e ácido chicórico. Estes compostos contribuem para a sua atividade antioxidante (Mingarro et al., 2015).

Tabela I. Compostos presentes em diferentes espécies do género *Taraxacum* (Adaptado de (Mingarro et al., 2015).

Compostos	T1*	T2*	T3*	T4*	T5*
Ácido clorogénico	-	-	-	+	++
Ácido cafeico	+	+	++	++	+
Ácido chicórico	+++	+++	++++	++	++
Luteolina-7-glucósido	+++	++	++	++	++
Rutina	++	++	++	++	++
Hesperidina	-	+	+	-	-
Quercetina	+	-	-	-	-
Luteolina	+++	+	+	++	+++
Apigenina	+++	++	++	++	+++
β -Sitosterol	++	+++	++	++	++

**T. obovatum* (T1); *T. marginellum* (T2); *T. hispanicum* (T3); *T. lambinonii* (T4); *T. lacistrum* (T5). O número de sinais + e - indica a presença ou ausência e a quantidade relativa de cada composto.

1.2.3. Uso Tradicional e Atividades Biológicas

O dente-de-leão é, genericamente, usado na medicina tradicional como laxante, diurético, antirreumático, hipoglicémico, tendo a capacidade de aumentar a produção e a excreção das secreções biliares, o que facilita a digestão dos alimentos com elevado teor lipídico. As raízes e partes aéreas podem ser utilizadas em infusões para tratamento da falta de apetite, inflamações do trato urinário e cálculos renais. As flores podem ser incluídas em infusões e xaropes para o tratamento de infeções do trato respiratório superior. Estas infusões apresentam um elevado teor de oligofrutanas que estimulam o

crescimento *in vitro* de diversas estirpes de bifidobactérias, constituintes da flora intestinal, o que pode contribuir para a promoção da saúde (Hu e Kitts, 2005; Trojanová et al., 2004). As lactonas sesquiterpênicas conferem um sabor amargo à planta, em particular na folha, mas também nas raízes. Estes compostos também explicam o aumento na produção de bÍlis observado em estudos *in vivo* com dente-de-leão, apoiando o uso tradicional da planta como estimulante digestivo amargo (Faber, 1958). Algumas das suas atividades biológicas mais estudadas incluem a atividade anti-inflamatória, antidiabética, antimicrobiana, anticancerígena e antioxidante (Pandey et al., 2011).

1.2.3.1. Atividade Anti-inflamatória

A inflamação constitui um fator chave que contribui para muitas doenças vasculares. Além disso, parece ter um importante papel em doenças autoimunes, artrite, reações alérgicas e cancro. Os efeitos anti-inflamatórios de extratos de *T. officinale* ou dos seus componentes têm sido reportados em ensaios *in vitro* e modelos animais. Por exemplo, a luteolina e a luteolina-O-glucósido, suprimiram a produção de óxido nítrico sintase (NOS) e da COX-2 em células de macrófagos de rato (Hu e Kitts, 2004).

Num outro estudo, o extrato metanólico de *T. officinale* inibiu as interações célula endotelial-monócito induzidas pelos lipopolissacáridos (LPS) através da redução da molécula de adesão das células vasculares e a expressão de citocinas pró-inflamatórias. O extrato de *T. officinale* suprimiu ainda a translocação nuclear induzida por LPS do factor nuclear kappa B (NF-κB), não afetando a ativação da proteína cinase ativada por mitogénio (MAPK) (Jeon et al., 2017).

Alguns estudos têm demonstrado propriedades anti-inflamatórias associadas aos extratos da raiz e flor e algumas evidências sugerem que os fenilpropanóides podem ser essenciais para essa atividade (Hu e Kitts, 2005; Yasukawa et al., 1998).

1.2.3.2. Atividade Antidiabética

A raiz e a folha do dente-de-leão têm demonstrado propriedades hipoglicémicas, embora não estejam totalmente definidos os potenciais mecanismos de ação (Petlevski et al., 2001). Nnamdi et al. (2012) estudaram o efeito hipoglicémico de folhas e raízes

de dente-de-leão em ratos diabéticos. Os resultados indicaram que a planta reduziu os valores de glicose sanguínea tanto nos extratos de folhas como de raízes. No entanto, as raízes demonstraram um melhor efeito no tratamento e manutenção da diabetes, nomeadamente o extrato etanólico (Nnamdi et al., 2012). Os taninos presentes na planta parecem ser responsáveis pela redução da glicémia nos ratos diabéticos, uma vez que estes compostos têm a capacidade de se ligar à amílase digestiva, impedindo a sua ação no processo digestivo. Desta forma, diminuem a taxa de hidratos de carbono digeridos que competem pela enzima, diminuindo os níveis de glicose no sangue. Além disso, também podem ligar-se à glicose, tornando a molécula indisponível para a absorção (Thompson, 1993). Outros compostos bioativos presentes no género *Taraxacum* têm também demonstrado ter atividade antidiabética, nomeadamente, lactonas sesquiterpénicas, triterpenos/fitosteróis (taraxasterol), flavonóides e ácidos fenólicos (González-Castejón et al., 2012; Schütz et al., 2006).

Iddrisu et al., (2016) determinaram o efeito antidiabético de pó de folhas e raízes de dente-de-leão em pacientes com Diabetes tipo 2. Para tal, dividiram os 60 pacientes em três grupos, que foram sujeitos aos seguintes tratamentos: grupo 1 - 5 g de folhas de dente-de-leão em pó (durante 9 dias); grupo 2 - 5 g de raízes de dente-de-leão em pó (durante 9 dias); grupo 3 - sem tratamento (controlo). Os resultados demonstraram que o consumo de 5 g de folhas e raízes de dente-de-leão reduziram significativamente os níveis de glicose no sangue de 10,7 mmol/L para 7,5 mmol/L ($p < 0,05$) e 10,5 mmol/L para 8,6 mmol/L ($p < 0,05$), respetivamente, nos pacientes diabéticos (Iddrisu et al., 2016).

Outro estudo revelou que um extrato de dente-de-leão estimulou a libertação de insulina pelas células β -pancreáticas (Hussain et al., 2004). Segundo os autores, utilizou-se 40 μ g/ml de extrato etanólico de dente-de-leão em células de insulinoma de rato (INS-1E) na presença de elevada concentração de glicose (6,0 mM), usando a glibenclámina (fármaco antidiabético) como controlo. Observou-se uma secreção de insulina pela células INS-1E comparativamente à glicose normal (3,0 mM) (Hussain et al., 2004).

1.2.3.3. Atividade Anticancerígena

O dente-de-leão tem sido usado em diversos sistemas médicos tradicionais, como por exemplo, na medicina tradicional chinesa e indiana para tratamento de diferentes tipos de cancro. Vários estudos têm relatado o potencial citotóxico da planta (Laranjeira et al., 2017; Tettey et al., 2014; Trinh et al., 2016). Relativamente ao *T. officinale*, um estudo de Laranjeira et al. (2017) relatou atividade antioxidante e citotóxica de extratos aquosos e etanólicos das partes aéreas da planta. Neste caso, avaliou-se a atividade citotóxica em células HepG2, onde o extrato etanólico revelou melhores propriedades antioxidantes e citoprotetoras em comparação com o extrato aquoso. Estes resultados parecem estar associados com o conteúdo fenólico dos extratos estudados (Laranjeira et al., 2017).

Por sua vez, um estudo de Rehman et al., (2017) analisou a atividade antiproliferativa dos extratos metanólicos da raiz do dente-de-leão na viabilidade celular de hepatocarcinoma (HepG2), cancro da mama (MCF7), cancro do cólon (HCT116) e células de fibroblastos (Hs27). Para a concentração de 500 µg/mL, o extrato diminuiu o crescimento das células HepG2 em aproximadamente 20% e para a concentração de 200 µg/mL reduziu-o em 62%, enquanto que nas células MCF7 e HCT116 o efeito foi menos pronunciado. Nas células Hs27 não foi observado qualquer efeito. O extrato metanólico inibiu a proliferação celular cancerígena por ativação da proteína cinase ativada-AMP (AMPK) (Rehman et al., 2017).

1.2.3.4. Atividade Antimicrobiana

Diferentes estudos que referem o uso tradicional de plantas no tratamento de infeções bacterianas (Kenny et al., 2015; Díaz et al., 2018). Estas propriedades têm sido atribuídas ao grande número de compostos bioativos presentes nos seus tecidos vegetais, nomeadamente aos compostos terpénicos, flavonóides, e outros compostos fenólicos (Chadwick et al., 2013; Mir et al., 2013).

No seu estudo, Diaz et al., (2018) demonstrou que um extrato de hexano de *T. officinale* inibiu o crescimento de *Staphylococcus aureus* em 89% na concentração de 200 µg/mL, tendo sido um inibidor mais efetivo para bactérias Gram positivas (Díaz et al., 2018). O *T. officinale* é a planta mais estudada quanto ao seu efeito antimicrobiano.

No entanto os resultados parecem variar dependendo das características de extração e do ensaio realizado. Por exemplo, um extrato metanólico de *T. officinale* a 0,2 mg/mL foi efetivo como antibacteriano contra *Micrococcus luteus* e *Vibrio cholera* apresentando valores de concentração mínima inibitória de 1,0 mg/mL e 12,5 mg/mL, respectivamente, mas não demonstrou qualquer atividade contra *S. aureus*, *Enterobacter faecalis*, *Enterococcus bacteria*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *K. pneumonia*, ou *E. coli* (Khan et al, 2011). Por sua vez, no estudo de Kenny et al. (2015), observou-se que o extrato metanólico de raízes de *T. officinale* inibiu o crescimento microbiano de estirpes de *S. aureus*, *S. aureus* resistente à metilina e *Bacillus cereus* (Kenny et al., 2015). Qian et al., (2014) preparou oligossacáridos provenientes de *T. officinale*. Estes compostos demonstraram ter atividade antibacteriana contra *E. coli*, *Bacillus subtilis* e *S. aureus*, demonstrando o seu potencial para serem usados como agentes antibacterianos (Qian et al., 2014).

1.3. Stress oxidativo e Defesas Antioxidantes

Stress oxidativo é definido como o desequilíbrio entre a produção de radicais livres e metabolitos reativos (denominados oxidantes ou ROS) e a sua eliminação pelos mecanismos protetores: os antioxidantes. Em organismos aeróbios, os radicais livres são constantemente produzidos durante o normal funcionamento da célula, na maior parte sob a forma de ROS (Díaz et al., 2018).

Em concentrações baixas ou moderadas, as ROS podem ser benéficas para a célula, uma vez que desempenham funções importantes na estimulação das vias de sinalização nas células vegetais e animais, como resposta a alterações nas condições ambientais (Reuter et al., 2010). No entanto, níveis de ROS maiores que as concentrações fisiológicas podem levar ao stress oxidativo, que está relacionado com o envelhecimento, doenças cardiovasculares, doenças neurodegenerativas, cancro, danos a nível hepático, entre outras patologias (Ballinger, 2005; Lima et al, 2006; Rahal et al., 2014). Os radicais livres contêm pelo menos um eletrão desemparelhado e possuem uma existência independente. A ocorrência de um eletrão desemparelhado resulta numa elevada reatividade destas espécies, devido à sua capacidade para doar ou receber eletrões de forma a obter estabilidade química. Os radicais livres, na sua maioria, apresentam um tempo de semivida curto, reagindo com outras moléculas (Kohen e Nyska, 2002).

1.3.1. Espécies reativas de oxigênio

As ROS representam a classe mais importante de radicais livres geradas pelo organismo (Miller et al., 1990). As mitocôndrias são uma das principais fontes de ROS, mas são também um dos primeiros alvos de ataque destes radicais (Figura III).

A cadeia respiratória é composta por proteínas transmembranares existentes na membrana mitocondrial interna. Assim, a formação de ROS ocorre perto da membrana. Desta forma, as ROS têm fácil acesso aos lípidos da membrana, resultando na peroxidação lipídica e promovendo a formação de vários tipos de ROS, nomeadamente, radicais lipídicos (L^{\bullet}), radicais peroxilo (LOO^{\bullet}) e lípidos hidroperóxidos (LOOH) (Mehrotra et al., 1991).

Os radicais de oxigênio incluem as moléculas oxigenadas altamente reativas, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o radical hidroxilo (OH^{\bullet}), os radicais hidroperoxilo (HO_2^{\bullet}), ou o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$). Algumas ROS são extremamente reativas, como o OH^{\bullet} , enquanto outras são menos reativas (pobres oxidantes), como o $O_2^{\bullet-}$ e o H_2O_2 (Nordberg e Arnér, 2001). Além disso, algumas destas ROS, como o $O_2^{\bullet-}$ e OH^{\bullet} são extremamente instáveis, enquanto outras, como o H_2O_2 , difundem-se facilmente e têm um tempo de vida longo (Finkel e Holbrook, 2000).

Por sua vez, as RNS também desempenham um papel importante no stress oxidativo. O principal RNS é o óxido nítrico (NO^{\bullet}), que funciona como molécula de sinalização em processos fisiológicos, como a neurotransmissão, regulação da pressão sanguínea, mecanismos de defesa e regulação da resposta imunitária (Bergendi et al., 1999).

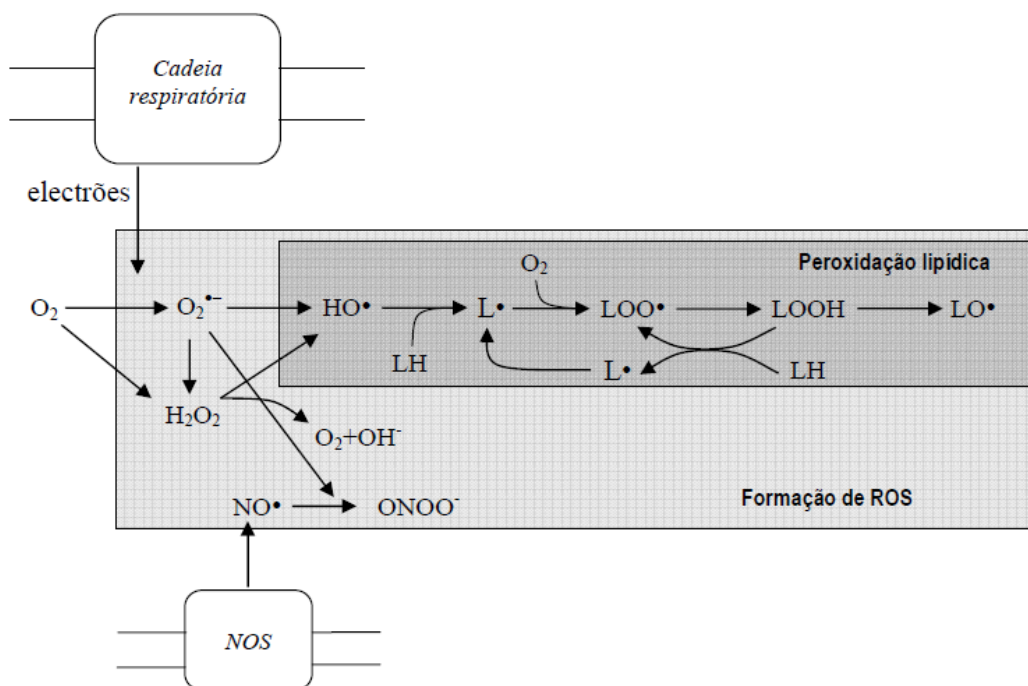


Figura III. Exemplos das principais reações que envolvem ROS e RNS. A cadeia respiratória produz

$O_2^{\bullet-}$ que podem ser transformados em H_2O_2 e HO^{\bullet} . Estes radicais podem reagir com lípidos membranares, promovendo a peroxidação lipídica e originando L^{\bullet} , LOO^{\bullet} e $LOOH$. A NOS mitocondrial produz NO^{\bullet} , que combina com o ânion superóxido para produzir peroxinitrílo ($ONOO^{\bullet}$) (Ferreira e Abreu, 2007).

1.3.2. Defesas Antioxidantes

Como referido anteriormente, durante o metabolismo normal são produzidas ROS responsáveis por importantes funções fisiológicas (Akanitapichat et al., 2010). As células estão continuamente expostas às ROS provenientes de fontes endógenas e exógenas. No processo endógeno, a maioria das ROS é produzida durante o metabolismo normal enquanto que as fontes extracelulares incluem radiação, poluentes e exposição a nanomateriais (Figura IV). As defesas antioxidantes presentes nas células são capazes de neutralizar as ROS, antes destas induzirem danos em componentes vitais, em circunstâncias normais (Sohn et al., 2005). Os antioxidantes podem, assim, ser definidos como

moléculas que protegem um alvo biológico do dano oxidativo, podendo ser classificados em dois grandes grupos: enzimáticos e não enzimáticos (Figura IV).

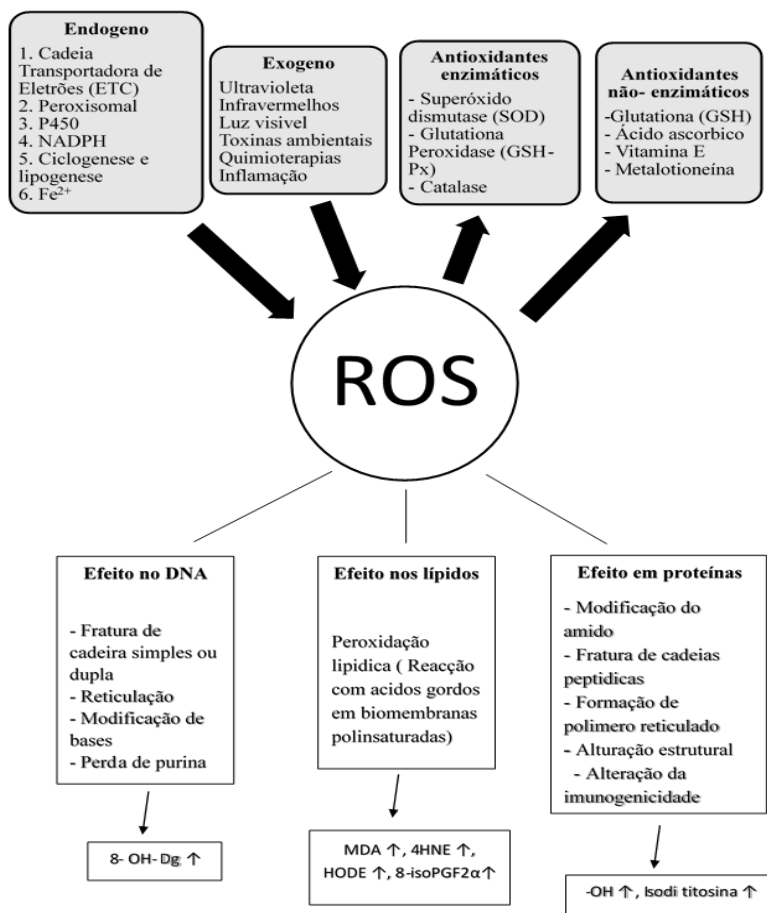


Figura IV. Fontes extracelulares e intracelulares para a produção de ROS (Adaptado de Ferreira e Abreu, 2007). 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OH-DG); Metilendioxianfetamina (MDA); 4-Hidroxinonenal (4-HNE); ácido hidroxiocetadecadienóico (HODE); 8-isoprostanO-PGF2 α (8-isoPGF2 α).

Exemplo de defesas antioxidantes enzimáticas incluem a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutaciona peroxidase (GPox), a glutaciona redutase (GR), entre outras. Entre as defesas antioxidantes não enzimáticas destacam-se compostos como a glutaciona (GSH) o α -tocoferol, o ácido ascórbico, os carotenóides, os flavonóides, entre outros (Valko et al., 2007). Alguns destes antioxidantes são produzidos endogenamente, como por exemplo, enzimas, moléculas de baixa massa molecular e cofatores enzimáticos). Por sua vez, muitos dos antioxidantes não enzimáticos são obtidos através das fontes alimentares. Os antioxidantes enzimáticos constituem o primeiro nível de defesa contra os radicais livres, ocorrem naturalmente no organismo e não são obtidos através

da alimentação (Halliwell, 2011). Os principais mecanismos dos antioxidantes celulares contra espécies reativas, incluem (Magalhães et al, 2008) (Figura IV):

- Inibição da formação de espécies reativas (antioxidantes preventivos);
- Remoção ou degradação de espécies reativas para produtos menos lesivos (antioxidantes de remoção);
- Sequestro de espécies reativas, apresentando-se as defesas antioxidantes para serem oxidadas (antioxidantes *scavenging*).

Além disso, os antioxidantes podem ainda proteger as moléculas alvo contra o dano oxidativo através de outros mecanismos por exemplo, proteínas de choque térmico (HSP), que são também proteínas de reparação (Halliwell, 2011; Halliwell e Gutteridge, 2015).

Como primeira linha de defesa, temos os antioxidantes preventivos que suprimem a formação de radicais por ligação e sequestro de promotores da oxidação e íons metálicos de transição como, ferro e cobre (Cui et al., 2004). A transferrina, a lactoferrina e a albumina são exemplos destes antioxidantes que participam na primeira linha de defesa (Figura V).

Como segunda linha de defesa temos os antioxidantes de remoção que degradam de forma catalítica espécies reativas específicas, convertendo-as em produtos não tóxicos (Halliwell e Gutteridge, 2015). A SOD, CAT e GPox constituem exemplos de antioxidantes de remoção.

As reações oxidativas em cadeia iniciadas pelas espécies reativas que escaparam às defesas antioxidantes anteriormente descritas (primeira e segunda linha de defesa) podem ser suprimidas por antioxidantes com capacidade *scavenging* de baixa massa molecular. Estes antioxidantes atuam, apresentando-se eles próprios para oxidação em estados iniciais das reações de oxidação em cadeia, inibindo a sua iniciação e prevenindo a propagação em cadeia (Cui et al., 2004). A GSH é o exemplo de um antioxidante que atuam nesta linha de defesa.

As defesas antioxidantes de reparação atuam na última linha de defesa, reparando os danos ou eliminando as moléculas lesadas (Figura V). Estas incluem as lípases, proteases, HSP, enzimas reparadoras de DNA, e transferases (Willcox et al, 2004).

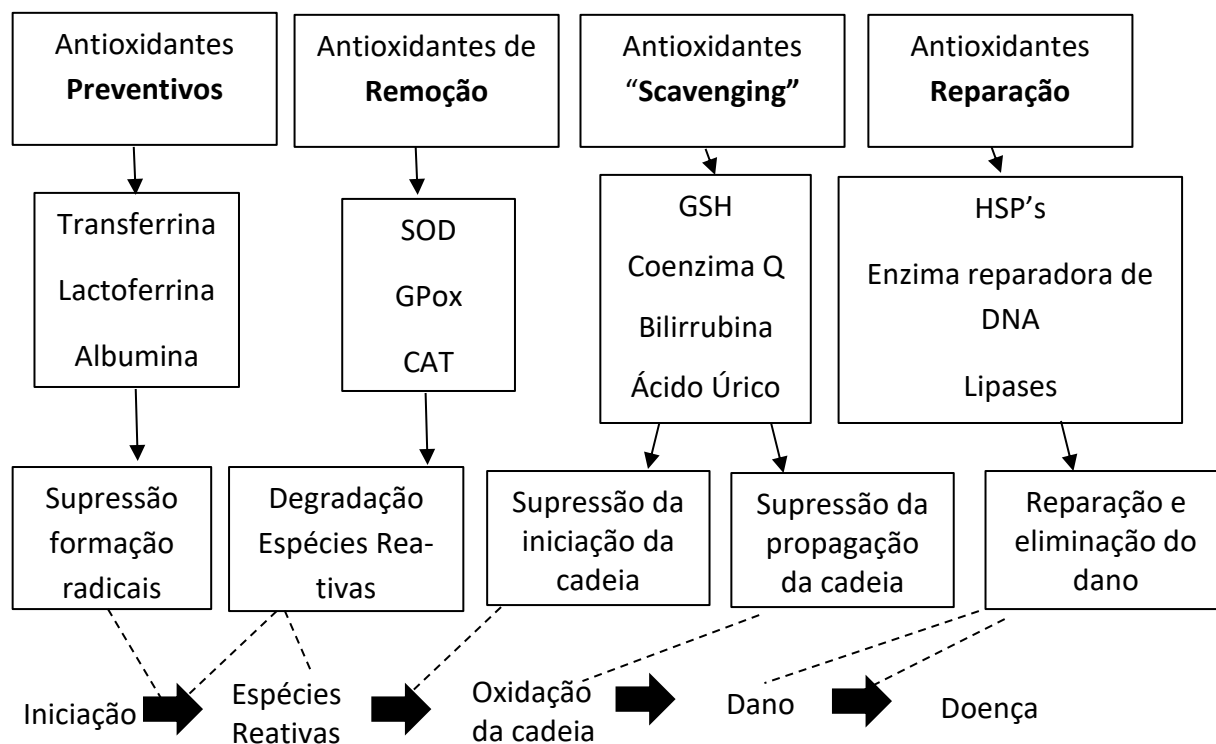


Figura V. Sistemas celulares antioxidantes que atuam contra as espécies reativas. (Adaptado de Willcox et al., 2004).

1.4. As Plantas Como Agentes Antioxidantes

Diferentes estudos suportam a hipótese que os antioxidantes provenientes de plantas são responsáveis pela promoção de uma vida saudável (Scalbert et al., 2005; Javanmardi et al. 2003). Estes antioxidantes provenientes de plantas apresentam um perfil de segurança superior aos antioxidantes sintéticos, uma vez que estes últimos podem causar hepatotoxicidade e carcinogenicidade. Desta forma, o desenvolvimento de antioxidantes mais seguros a partir de fontes naturais tem aumentado nos últimos anos. No entanto, é difícil prever a sua ação em seres humanos, visto que os estudos realizados testam doses ou concentrações inferiores do que as observadas para seres humanos (Scalbert et al., 2005).

Os alimentos e nutrientes desempenham um papel vital no funcionamento normal do organismo, ajudando na manutenção da saúde e na redução do risco de diversas doenças. Desta forma, surge em todo o mundo o conceito de “alimento funcional”, ou seja, qualquer alimento ou ingrediente alterado que pode dar um efeito benéfico para além dos fornecidos pelos nutrientes neles contidos. Por outro lado, um alimento não alterado (ou parte dele) com benefícios de saúde ou medicinais podem ser definidos como “nutracêuticos” (Ferrari, 2004).

Os nutracêuticos, ao contrário dos medicamentos, são substâncias geralmente sem proteção de patente (Chauhan et al., 2013). Por sua vez, os suplementos alimentares podem conter minerais, vitaminas, aminoácidos, plantas ou extratos de plantas, usados para suplementar a dieta. Como tal, os suplementos não devem tratar ou curar doenças (Ross, 2000), enquanto que os nutracêuticos têm o seu foco nos resultados esperados, ou seja, podem ser usados na prevenção ou tratamento de doenças e não apenas com o objetivo de nutrição (Bagchi, 2006).

Existem, como tal, dois requisitos essenciais para que um alimento seja considerado um nutracêutico: a prevenção e/ou tratamento de uma determinada doença (benefícios fisiológicos); e a redução do aparecimento de doenças crónicas. No entanto, em Portugal e na União Europeia, o termo nutracêutico surge associado a suplemento alimentar e consiste numa forma concentrada de nutrientes ou outras substâncias com efeito nutricional ou fisiológico cujo objetivo é complementar uma dieta normal (Espín et al., 2007).

A maioria dos nutracêuticos possui múltiplas propriedades terapêuticas (Chauhan et al., 2013; Nasri et al., 2014). A lista de nutracêuticos a ser estudada continua a aumentar e reflete os progressos de mercado a nível da pesquisa e interesse de consumo. Face a este aumento de interesse no consumo de nutracêuticos, torna-se crucial a pesquisa no sentido de se obter produtos seguros e eficazes. Nasr et al.,(2014) referem que o mercado mundial de nutracêuticos está em constante crescimento, podendo chegar aos 250 biliões de dólares em 2018 (Nasri et al., 2014).

1.4.1. Nutracêuticos e Suplementos Alimentares

São muitas as definições existentes para nutracêutico, podendo diferir entre países. Em 1999, Zeisel definiu nutracêutico como “um suplemento dietético que fornece de forma concentrada, agentes bioativos de alimentos, numa matriz não alimentar, sendo utilizados com a finalidade de melhorar a saúde em doses que excedem aquelas que poderiam ser obtidas a partir de uma alimentação normal, e que são também vendidos em apresentação semelhante à dos fármacos” (Zeisel e Steven, 1999). Mais tarde, em 2005, Wrick definiu um nutracêutico como “qualquer substância considerada um alimento ou parte de um alimento que tenha um efeito médico ou benéfico na saúde, incluindo a prevenção e tratamento de doenças, e que incluem nutrientes isolados, suplementos alimentares, alimentos geneticamente modificados, suplementos botânicos e alimentos processados” (Wrick, 2005).

1.4.2. Classificação de nutracêutico

Os nutracêuticos podem ser classificados com base nas suas fontes naturais (vegetais, animais, minerais ou microbianas), no mecanismo de ação, ou na constituição química dos produtos. Tendo em conta a fonte alimentar dos nutracêuticos, podemos ter: fibras dietéticas, probióticos, prebióticos, ácidos gordos polinsaturados, vitaminas antioxidantes, polifenóis e especiarias (Kalia, 2005). Os nutracêuticos à base de plantas, constituem assim um poderoso instrumento na manutenção da saúde e na atuação contra doenças agudas e crónicas induzidas nutricionalmente, contribuindo para a promoção da saúde, longevidade e qualidade de vida (Chauhan, et al., 2013).

1.4.2.1. *Fibras dietéticas*

A fibra alimentar consiste em material vegetal não hidrolisado pelas enzimas segregadas pelo trato digestivo, mas digeridas pela microflora intestinal. As fibras dietéticas incluem principalmente polissacarídeos não-amiláceos, como celulosas, hemicelulosas, gomas e pectinas, lignina, dextrinas e amidos resistentes. São exemplos de alimentos ricos em fibra solúvel as frutas, aveia, cevada e feijão. Constituem polímeros de hidratos de carbono com um grau de polimerização não inferior a três, não absorvidos nem digeridos no intestino delgado. Com base na sua solubilidade em água, as fibras

alimentares podem ser divididas em fibra dietética insolúvel (inclui celuloses, algumas hemiceluloses e ligninas, sendo fermentada até um limite no cólon) e fibra dietética solúvel (inclui β -glucanas, pectinas, gomas, mucilagens e hemiceluloses que são fermentadas no cólon).

Os componentes solúveis da fibra alimentar, dependendo da sua capacidade de produzir volume e viscosidade, retardam o esvaziamento gástrico do estômago (Leclere et al., 1994). Isto afeta a taxa de digestão e a absorção de nutrientes, criando uma sensação de saciedade. A fibra solúvel está implicada na redução do colesterol, na melhoria da tolerância à glicose e no aumento do volume de fezes. O seu consumo regular diminui o risco de acidente vascular cerebral (Steffen et al., 2003), hipertensão (Whelton et al., 2005), diabetes (Montonen et al., 2003), obesidade (Lairon et al., 2005) e certas desordens gastrointestinais (Petruzzello et al., 2006).

1.4.2.2. *Probióticos e Prebióticos*

Um probiótico pode ser definido como um suplemento microbiano vivo, que quando administrado em quantidades adequadas melhora o equilíbrio microbiano intestinal (Fuller, 1992). Os probióticos normalmente incluem Lactobacilos e Bifidobactérias. Os probióticos específicos são usados para tratar condições gastrointestinais, como intolerância à lactose, diarreia aguda e efeitos secundários GI associados a antibióticos (Doron et al., 2005).

Os prebióticos são ingredientes alimentares que afetam de forma benéfica o organismo alterando seletivamente a composição ou metabolismo intestinal (Macfarlane et al., 2006). Constituem polissacarídeos de cadeia curta com estruturas químicas únicas, não digeridas, em particular os oligossacáridos à base de frutose (que existem naturalmente ou são adicionados aos alimentos). O consumo de prebióticos promove o crescimento de Lactobacilos e Bifidobactérias (Hord, 2008). Alimentos ricos em oligossacáridos incluem a chicória, o tomate e a banana. Os prebióticos melhoram a tolerância à lactose, apresentam propriedades antitumorais, neutralizam toxinas, estimulam o sistema imune intestinal e atuam a nível do colesterol total (Fuller, 1992; Isolauri et al., 1991; Lin et al., 1989).

1.4.2.3. Ácidos gordos polinsaturados (PUFAS)

Os PUFAS ou “ácidos gordos essenciais” são introduzidos no organismo pela dieta. Podem ser divididos em ácidos gordos ómega 3 e ómega 6. Os ómega 3 incluem o ácido α -linolénico (ALA), o ácido eicosapentanoico (EPA) e o ácido docosahexanoico (DHA). O ALA é precursor do EPA e DHA. O EPA e DHA são encontrados principalmente em peixes gordos, como a cavala, salmão, arenque, truta, atum de barbatana azul e óleos de peixe. As principais fontes de ALA são as sementes de linhaça, soja, canola e nozes. Os ómega 6 incluem o ácido linoleico (LA), o ácido γ -linolénico (GLA) e o ácido araquidónico (ARA). Os ómega 3 têm um efeito hipolipidémico (Bucher et al, 2002; Nemets et al, 2002), antitrombótico (Albert et al., 2002; Bucher et al., 2002; Hiroyasu et al., 2001; Stoll et al., 1999), atuando ainda de forma benéfica a nível cardiovascular (Leray et al, 2001; Stoll et al., 1999), Evidências científicas mostram os benefícios dos óleos com ómega 3 em outras áreas de saúde, incluindo na asma (Broughton et al., 1997), transtornos bipolares e depressivos (Edwards et al., 1998; Stoll et al., 1999), dismenorreia e diabetes (Connor, 1997; Simopoulos, 1991).

1.4.2.4. Vitaminas Antioxidantes e Carotenóides

As vitaminas (vitamina C e E) e os carotenóides constituem vitaminas antioxidantes, atuando na prevenção de reações oxidativas agindo isoladamente e/ou de forma sinérgica. Estas vitaminas são abundantes em muitas frutas e legumes. A vitamina E que compreende os tocoferóis, protege a peroxidação dos PUFAS nas membranas biológicas e da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (Meydani, 2000). A vitamina C, ou ácido ascórbico, doa átomos de hidrogénio para os radicais lipídicos, extingue radicais singletos de oxigénio e remove o oxigénio molecular.

No caso dos carotenoides, estes encontram-se largamente distribuídos nos sistemas naturais e incluem o licopeno, o β -caroteno, a luteína e a zeaxantina (Young e Lowe, 2018). Os efeitos benéficos dos carotenóides têm sido confirmados no caso de vários tipos de cancro, doenças cardiovasculares e fotossensíveis, assim como em doenças oculares (Fiedor e Burda, 2014).

1.4.2.5. *Especiarias*

As especiarias são usadas há milhares de anos e transmitem um sabor característico, aroma e cor aos alimentos estimulando o apetite e podendo mesmo modificar a textura dos alimentos. Vários estudos têm demonstrado que as especiarias em quantidades reduzidas possuem atividade antioxidante (ex.: curcuma, pimenta, cravinho), digestiva (ex.: curcuma; pimenta, gengibre, cominho, erva-doce, coentro, cebola, hortelã), antimutagênica (ex.: curcuma, alho, gengibre, mostarda), anti-inflamatória (ex.: curcuma, pimenta, cravinho), antimicrobiana (ex.: curcuma, alho), cardiovascular (ex.: alho, cebola, feno-grego, curcuma, pimenta vermelha), metabólica (ex.: feno-grego, alho, cebola, açafrão, cominho), reprodutiva, entre outras (Das et al., 2012; Hendrich et al., 1994; Kochhar, 2008; Kretchmer, 1994; Lampe, 2003; Pezzuto, 2002; Rao, 2003).

1.4.2.6. *Polifenóis*

De entre os compostos antioxidantes podemos destacar os compostos fenólicos, que são metabolitos que integram a dieta humana e representam o principal grupo de antioxidantes naturais (Gonçalves et al., 2017). Os compostos fenólicos incluem os polifenóis e os fenóis simples. Os polifenóis formam um grande grupo de fitoquímicos produzidos pelas plantas, como forma de proteção do stress oxidativo resultante da fotossíntese. De entre as classes de polifenóis, destacam-se os flavonóides (flavonóis, flavonas, flavan-3-ols, flavanonas e antocianinas). Tem sido demonstrado que os flavonóides atuam como antioxidantes para exercer uma atividade antialérgica, anti-inflamatória, antidiabética, antimicrobiana, antitrombótica e vasodilatadora. Estes compostos podem ainda prevenir doenças como cancro, doenças cardiovasculares, doenças oculares e neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (Duthie et al., 2003; Hannan et al., 2016; Scalbert et al., 2005; Vodnar et al., 2017). Estes compostos estão presentes em vários alimentos, como no vinho tinto (Corder et al., 2001) e no chá-verde (Lambert et al., 2005).

Muitas plantas consumidas atualmente na dieta são ricas em polifenóis. No que diz respeito ao *T. hispanicum*, foram identificados flavonóides como a luteolina-7-glicósido, rutina, hesperidina, luteolina e a apigenina. Estes compostos contribuem para a sua atividade antioxidante (Mingarro et al., 2015). Vários ensaios têm sido desenvolvidos de modo a avaliar as propriedades antioxidantes de um composto ou extrato, incluindo ensaios para determinar a capacidade antioxidante total; atividade *scavenging* do radical superóxido e hidroxilo; atividade *scavenging* do radical oxigênio (ORAC); atividade redutora do catião ferro (Fe^{3+}) e cobre (Cu^{2+}) (ensaio FRAP e CUPRAC respectivamente); atividade quelante de metais; atividade *scavenging* dos radicais $\text{ABTS}^{\cdot+}$ e DPPH^{\cdot} e capacidade de inibição da peroxidação lipídica (Gülçin, 2012; Thatoi et al., 2014).

1.5. Referências

- Akanitapichat, P., Phraibung, K., Nuchklang, K., e Prompitakkul, S. (2010). Antioxidant and hepatoprotective activities of five eggplant varieties. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 3017–3021. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.045>
- Albert, C. M., Campos, H., Stampfer, M. J., Ridker, P. M., Manson, J. E., Willett, W. C., & Ma, J. (2002). Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *English Journal*, 346(15), 1113–1118. <https://doi.org/10.1007/s13278-012-0053-0>
- Bagchi, D. (2006). Nutraceuticals and functional foods regulations in the United States and around the world. *Toxicology*, 222, 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.01.001>
- Ballinger, S. W. (2005). Mitochondrial dysfunction in cardiovascular disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(10), 1278–1295. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.02.014>
- Bergendi, L., Beneš, L., Ďuracková, Z., e Ferenčík, M. (1999). Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life Sciences*, 65(18–19), 1865–1874. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(99\)00439-7](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(99)00439-7)
- Brandão, H., David, J., Couto, R., e Nascimento, J. (2010). Química e Farmacologia de Quimioterápicos Antineoplásicos derivados de plantas. *Quim, Nova*, 33(6), 1359–1369.
- Broughton, K. S., Johnson, C. S., Pace, B. K., Liebman, M., e Kleppinger, K. M. (1997). Reduced asthma symptoms with n-3 fatty acid ingestion are related to 5-series leukotriene production. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65(4), 1011–1017. <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.4.1011>

- Brower, V. (1998). Nutraceuticals: Poised for a healthy slice of the healthcare market? *Nature Biotechnology*, 16(8), 728–731. <https://doi.org/10.1038/nbt0898-728>
- Bucher, H. C., Hengstler, P., Schindler, C., e Meier, G. (2002). N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *American Journal of Medicine*, 112(4), 298–304. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(01\)01114-7](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(01)01114-7)
- Budzianowski, J. (1997). Coumarins, caffeoyltartaric acids and their artifactual methyl esters from *Taraxacum officinale* leaves. *Planta Medica*, 63(3), 288. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957681>
- Chadwick, M., Trewin, H., Gawthrop, F., e Wagstaff, C. (2013). Sesquiterpenoids lactones: Benefits to plants and people. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(6), 12780–12805. <https://doi.org/10.3390/ijms140612780>
- Chauhan, B., Ansari, S., Kalam, N., e Kumar, G. (2013). Current concepts and prospects of herbal nutraceutical: A review. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology e Research*, 4(1), 4. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.107494>
- Colle, D., Arantes, L. P., Gubert, P., da Luz, S. C. A., Athayde, M. L., Teixeira Rocha, J. B., e Soares, F. A. A. (2012). Antioxidant Properties of *Taraxacum officinale* Leaf Extract Are Involved in the Protective Effect Against Hepatotoxicity Induced by Acetaminophen in Mice. *Journal of Medicinal Food*, 15(6), 549–556. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0282>
- Connor, W. E. (1997). Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 71(March), 234–239.
- Corder, R., Douthwaite, J. A., Lees, D. M., Khan, N. Q., Viseu dos Santos, A. C., Wood, E. G., e Carrier, M. J. (2001). Health: Endothelin-1 synthesis reduced by red wine. *Nature*, 414(6866), 863–864. <https://doi.org/10.1038/414863a>
- Cui, K., Luo, X., Xu, K., e Ven Murthy, M. R. (2004). Role of oxidative stress in neurodegeneration: Recent developments in assay methods for oxidative stress and nutraceutical antioxidants. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 28(5), 771–799. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.05.023>
- Das, L., Bhaumik, E., Raychaudhuri, U., e Chakraborty, R. (2012). Role of nutraceuticals in human health. *Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 173–183. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0269-4>
- Díaz, K., Espinoza, L., Madrid, A., Pizarro, L., e Chamy, R. (2018). Isolation and Identification of Compounds from Bioactive Extracts of *Taraxacum officinale* Weber ex F. H. Wigg. (Dandelion) as a Potential Source of Antibacterial Agents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2706417>
- Doron, S., Snyderman, D. R., e Gorbach, S. L. (2005). *Lactobacillus GG*: Bacteriology and

clinical applications. *Gastroenterology Clinics of North America*, 34(3), 483–498.

<https://doi.org/10.1016/j.gtc.2005.05.011>

Dufresne, C. J., e Farnworth, E. R. (2001). A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 12(7), 404–421.

[https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(01\)00155-3](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(01)00155-3)

Duthie, G. G., Gardner, P. T., e Kyle, J. A. M. (2003). Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(03), 599–603.

<https://doi.org/10.1079/PNS2003275>

Edwards, R., Peet, M., Shay, J., e Horrobin, D. (1998). Omega-3 polyunsaturated fatty acid levels in the diet and in red blood cell membranes of depressed patients. *Journal of Affective Disorders*, 48(2–3), 149–155. [https://doi.org/10.1016/S0165-0327\(97\)00166-3](https://doi.org/10.1016/S0165-0327(97)00166-3)

Escudero, N. L., De Arellano, M. L., Fernández, S., Albarracín, G., e Mucciarelli, S. (2003). *Taraxacum officinale* as a food source. *Plant Foods for Human Nutrition*, 58(3), 1–10.

<https://doi.org/10.1023/B:QUAL.0000040365.90180.b3>

Espín, J. C., García-Conesa, M. T., e Tomás-Barberán, F. A. (2007). Nutraceuticals: Facts and fiction. *Phytochemistry*, 68(22–24), 2986–3008.

<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.09.014>

Faber, K. (1958). [The dandelion *Taraxacum officinale* Weber]. *Die Pharmazie*, 13(7), 423–436. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13578653>

Ferrari, C. K. B. (2004). Functional foods, herbs and nutraceuticals: Towards biochemical mechanisms of healthy aging. *Biogerontology*, 5(5), 275–289.

<https://doi.org/10.1007/s10522-004-2566-z>

Ferreira, I. C., e Abreu, R. M. (2007). Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. *Sociedade Portuguesa de Bioanalistas Da Saúde*, 32–39.

<https://doi.org/10.1109/ICC.2003.1204558>

Fiedor, J., e Burda, K. (2014). Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*, 6(2), 466–488. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>

Finkel, T., e Holbrook, N. J. (2000). Oxidants, oxidative damage, and the biology of ageing. *Nature*, 408(November), 239–247. <https://doi.org/10.1038/35041687>

Fuller, R. (1992). *Probiotics : the scientific basis*. Springer Netherlands.

Galán de Mera, A. (2013). *Taraxacum* F.H. Wigg. *Flora Iberica Vol. 16*, 16, 1–86.

Disponível

em:[http://www.floraiberica.es/%5Cnhttp://www.floraiberica.es/PHP/cientificos_.php?gen=Ta](http://www.floraiberica.es/%5Cnhttp://www.floraiberica.es/PHP/cientificos_.php?gen=Taraxacum)
raxacum

Gonçalves, S., Moreira, E., Grosso, C., Andrade, P. B., Valentão, P., e Romano, A.

(2017). Phenolic profile, antioxidant activity and enzyme inhibitory activities of extracts from aromatic plants used in Mediterranean diet. *Journal of Food Science and Technology*, 54(1), 219–227. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2453-z>

González-Castejón, M., Visioli, F., e Rodriguez-Casado, A. (2012). Diverse biological activities of dandelion. *Nutrition Reviews*, 70(9), 534–547. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00509.x>

Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 24(3), 56–58. <https://doi.org/10.1007/s00204-011-0774-2>

Halliwell, B. (2011). Free radicals and antioxidants - Quo vadis? *Trends in Pharmacological Sciences*, 32(3), 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2010.12.002>

Halliwell, B., e Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>

Hannan, P. A., Khan, J. A., Ullah, I., e Ullah, S. (2016). Synergistic combinatorial antihyperlipidemic study of selected natural antioxidants; Modulatory effects on lipid profile and endogenous antioxidants. *Lipids in Health and Disease*, 15(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0323-3>

Hata, K., Ishikawa, K., Hori, K., e Konishi, T. (2000). Differentiation-inducing activity of lupeol, a lupane-type triterpene from Chinese dandelion root (Hokouei-kon), on a mouse melanoma cell line. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(8), 962–967. <https://doi.org/10.1248/bpb.23.962>

Hendrich, S., Lee, K. W., Xu, X., Wang, H. J., e Murphy, P. A. (1994). Defining food components as new nutrients. *Journal of Nutrition*, 124(9 Suppl), 1789S–1792S.

Hiroyasu, I., Rexrode, K. M., Stampfer, M. J., Manson, J. E., Colditz, G. A., Speizer, F. E., ... Willett, W. C. (2001). Intake of Fish and Omega-3 Fatty Acids and Risk of Stroke in Women Original Contribution. *Health (San Francisco)*, 285(3), 1–4. <https://doi.org/10.1001/jama.285.3.304>

Hord, N. G. (2008). Eukaryotic-Microbiota Crosstalk: Potential Mechanisms for Health Benefits of Prebiotics and Probiotics. *Annual Review of Nutrition*, 28(1), 215–231. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.28.061807.155402>

Hu, C., e Kitts, D. D. (2004). Luteolin and luteolin-7-O-glucoside from dandelion flower suppress iNOS and COX-2 in RAW264.7 cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 265(1–2), 107–113. <https://doi.org/10.1023/B:MCBI.0000044364.73144.fe>

Hu, C., e Kitts, D. D. (2005). Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 12(8), 588–

597. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.12.012>

Hudec, J., Burdová, M., Kobida, L., Komora, L., Macho, V., Kogan, G., ... Chlebo, P. (2007). Antioxidant capacity changes and phenolic profile of *Echinacea purpurea*, nettle (*Urtica dioica* L.), and dandelion (*Taraxacum officinale*) after application of polyamine and phenolic biosynthesis regulators. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5689–5696. <https://doi.org/10.1021/jf070777c>

Hussain, Z., Waheed, A., Qureshi, R. A., Burdi, D. K., Verspohl, E. J., Khan, N., e Hasan, M. (2004). The Effect of Medicinal Plants of Islamabad and Murree Region of Pakistan on Insulin Secretion from INS-1 Cells. *Phytotherapy Research*, 18(1), 73–77. <https://doi.org/10.1002/ptr.1372>

Iddrisu, I., Oduro, I., e Tandoh, M. A. (2016). The Effect of Dandelion Leaves and Roots on Blood Glucose in Type 2 Diabetic Patients. *Journal of Nutritional Ecology and Food Research*, 3(2), 125–132. <https://doi.org/10.1166/jnef.2016.1128>

Isolauri, E., Rautanen, T., Juntunen, M., Sillanaukee, P., e Koivula, T. (1991). A Human *Lactobacillus* Strain (*Lactobacillus Casei* sp strain GG) Promotes Recovery From Acute Diarrhea in Children. *Pediatrics*, 88(1).

Jassim, A. K. N., Farhan, S. A., e Noori, O. M. (2012). Identification of Dandelion *Taraxacum officinale* Leaves Components and Study Its Extracts Effect on Different Microorganisms. *Journal of Al-Nahrain University Science*, 15(3), 7–14. <https://doi.org/10.22401/JNUS.15.3.02>

Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., e Vivanco, J. M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83(4), 547–550. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00151-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00151-1)

Jeon, D., Kim, S. J., e Kim, H. S. (2017). Anti-inflammatory evaluation of the methanolic extract of *Taraxacum officinale* in LPS-stimulated human umbilical vein endothelial cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-2022-7>

Jeon, H. J., Kang, H. J., Jung, H. J., Kang, Y. S., Lim, C. J., Kim, Y. M., e Park, E. H. (2008). Anti-inflammatory activity of *Taraxacum officinale*. *Journal of Ethnopharmacology*, 115(1), 82–88. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.09.006>

Kalia, A. N. (2005). *Textbook of industrial pharmacognosy*. Satish Kumar Jain for CBS.

Kalra, E. K. (2003). Nutraceutical - Definition and Introduction. *AAPS PharmSci* 2003, 5(3). <https://doi.org/10.1208/ps050325>

Kenny, O., Brunton, N. P., Walsh, D., Hewage, C. M., McLoughlin, P., e Smyth, T. J. (2015). Characterisation of antimicrobial extracts from dandelion root (*Taraxacum officinale*)

using LC-SPE-NMR. *Phytotherapy Research*, 29(4), 526–532. <https://doi.org/10.1002/ptr.5276>

Khan, A. M., Qureshi, R. A., Gillani, S. A., e Ullah, F. (2011). Antimicrobial activity of selected medicinal plants of, 5(18), 4665–4670.

Khosravi-Boroujeni, H., Sarrafzadegan, N., Mohammadifard, N., Sajjadi, F., Maghroun, M., Asgari, S., ... Azadbakht, L. (2013). White rice consumption and CVD risk factors among Iranian population. *Journal of Health, Population and Nutrition*, 31(2), 252–261. <https://doi.org/10.3329/jhpn.v31i2.16390>

Kisiel, W., e Barszcz, B. (2000). Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. *Fitoterapia*, 71(3), 269–273. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(99\)00158-6](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(99)00158-6)

Kochhar, K. P. (2008). Review Article Dietary Spices in Health and Diseases : I. *Indian Journal of Physiology & Pharmacology*, 52(2), 106–122.

Kohen, R., e Nyska, A. (2002). Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reactions, and Methods for Their Quantification. *South African Medical Journal*, 30(6), 620–644. <https://doi.org/10.1080/0192623029016672>

Koo, H.-N., Hong, S.-H., Song, B.-K., Kim, C.-H., Yoo, Y.-H., e Kim, H.-M. (2004). *Taraxacum officinale* induces cytotoxicity through TNF- α and IL-1 α secretion in Hep G2 cells. *Life Sciences*, 74(9), 1149–1157. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.07.030>

Kretchmer, N. (1994). Nutrition is the keystone of prevention (Editorial). *Am J Clin Nutr*, 60, 1.

Lairon, D., Arnault, N., Bertrais, S., Planells, R., Clero, E., Hercberg, S., e Boutron-Ruault, M. C. (2005). Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 82(6), 1185–1194. <https://doi.org/10.1093/ajcn/82.6.1185>

Lambert, J. D., Hong, J., Yang, G., Liao, J., e Yang, C. S. (2005). Inhibition of carcinogenesis by polyphenols : evidence from. *Ajcn*, 81(April), 284–291.

Lampe, J. W. (2003). Spicing up a vegetarian diet : chemopreventive effects of. *Am J Clin Nutr*, 78(April), 579–583.

Laranjeira, C., Nogueira, A., Almeida, R., Oliveira, R., Oliveria, A., Pinho, C., e Cruz, A. (2017). Antioxidant Activity and Cytotoxicity of *Taraxacum hispanicum* Aqueous and Ethanolic Extracts on HepG2 Cells. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(1), 5–12. <https://doi.org/10.25258/ijpapr.v9i1.8032>

Lateef, O., e Issah, Y. (2012). Screening ethanolic and aqueous leaf extracts of *Taraxacum officinale* for in vitro bacteria growth inhibition. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences © (JPBMS)*, 20(20).

- Leclere, C. J., Champ, M., Boillot, J., Guille, G., Lecannu, G., Molis, C., ... Galmiche, J.-P. (1994). Role of viscous guar gums in lowering the glycemic response after a solid meal. *American Journal of Clinical Nutrition*, 59(4), 914–921. Disponível em: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed3&NEWS=N&AN=1994117196>
- Leung, A., e Foster, S. (1996). Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs and Cosmetics. *Food / Nahrung*, 40(5), 289–289. <https://doi.org/10.1002/food.19960400517>
- Lima, C. F., Fernandes-Ferreira, M., e Pereira-Wilson, C. (2006). Phenolic compounds protect HepG2 cells from oxidative damage: Relevance of glutathione levels. *Life Sciences*, 79(21), 2056–2068. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2006.06.042>
- Lin, S. Y., Ayres, J. W., Winkler, W. J., e Sandine, W. E. (1989). Lactobacillus effects on cholesterol: in vitro and in vivo results. *Journal of Dairy Science*, 72(11), 2885–2899. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(89\)79439-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(89)79439-X)
- Macfarlane, S., Macfarlane, G. T., e Cummings, J. H. (2006). Review article: Prebiotics in the gastrointestinal tract. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 24(5), 701–714. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.03042.x>
- Magalhães, L. M., Segundo, M. A., Reis, S., e Lima, J. L. F. C. (2008). Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. *Analytica Chimica Acta*, 613(1), 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.02.047>
- Mehrotra, S., Kakkar, P., e Viswanathan, P. N. (1991). Mitochondrial damage by active oxygen species in vitro. *Free Radical Biology and Medicine*, 10(5), 277–285. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(91\)90034-Z](https://doi.org/10.1016/0891-5849(91)90034-Z)
- Meydani, M. (2000). Effect of functional food ingredients: Vitamin E modulation of cardiovascular diseases and immune status in the elderly. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6 SUPPL.), 8–11. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.6.1665S>
- Miller, D. M., Buettner, G. R., e Aust, S. D. (1990). Transition metals as catalysts of “autoxidation” reactions. *Free Radical Biology and Medicine*, 8(1), 95–108. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(90\)90148-C](https://doi.org/10.1016/0891-5849(90)90148-C)
- Mingarro, D. M., Plaza, A., Galán, A., Vicente, J. A., Martínez, M. P., e Acero, N. (2015). The effect of five *Taraxacum* species on in vitro and in vivo antioxidant and antiproliferative activity. *Food and Function*, 6(8), 2787–2793. <https://doi.org/10.1039/c5fo00645g>
- Mir, A., Sawhney, S., e Jassal, M. (2013). Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals of *Taraxacum officinale*. *Wudpecker Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(1), 1–5.

Montonen, J., Knekt, P., Järvinen, R., Aromaa, A., e Reunanen, A. (2003). Whole-grain and fiber intake and the incidence of type 2 diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*, 77(3), 622–629. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.3.622>

Moraes, F. P., e Colla, L. M. (2006). Alimentos Funcionais e Nutracêuticos: Definições, Legislação e Benefícios à Saúde. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 3(2), 14. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5216/ref.v3i2.2082>

Nasri, H., Baradaran, A., Shirzad, H., e Kopaei, M. R. (2014). New concepts in nutraceuticals as alternative for pharmaceuticals. *International Journal of Preventive Medicine*, 5(12), 1487–1499. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25709784>

Nemets, B., Stahl, Z., e Belmaker, R. H. (2002). Addition of omega-3 fatty acid to maintenance medication treatment for recurrent unipolar depressive disorder. *American Journal of Psychiatry*, 159(3), 477–479. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.3.477>

Nnamdi, C., Uwakwe, A. A., e Chuku, L. C. (2012). Hypoglycemic Effects of Aqueous and Ethanol Extracts of Dandelion (*Taraxacum officinale* F.H. Wigg.) Leaves and Roots on Streptozotocin-Induced Albino Rats. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, 1(6), 211–217. Disponível em: [http://gjrm.com/Upload/Issue6/ChinakaNnmadi et al.,GJRM1\(6\) 211-217.pdf](http://gjrm.com/Upload/Issue6/ChinakaNnmadi%20et%20al.,GJRM1%201(6)%20211-217.pdf)

Nordberg, J., e Arnér, E. S. J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287–1312. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00724-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00724-9)

Pandey, S., Chatterjee, S. J., Ovadje, P., Mousa, M., e Hamm, C. (2011). The efficacy of dandelion root extract in inducing apoptosis in drug-resistant human melanoma cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/129045>

Petlevski, R., Hadžija, M., Slijepčević, M., e Juretič, D. (2001). Effect of “antidiabetic” herbal preparation on serum glucose and fructosamine in NOD mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2–3), 181–184. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00177-5](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00177-5)

Petruzzello, L., Iacopini, F., Bulajic, M., Shah, S., e Costamagna, G. (2006). Review article: Uncomplicated diverticular disease of the colon. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 23(10), 1379–1391. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.02896.x>

Pezzuto, J. M. (2002). Natural Compounds in Cancer Therapy. *Pharmaceutical Biology*, 40(1), 79. <https://doi.org/10.1076/phbi.40.1.79.5858>

Proença, C., Silva, A., e Roque, O. (2003). *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenjian.

Qian, L., Zhou, Y., Teng, Z., Du, C.-L., e Tian, C. (2014). Preparation and antibacterial activity of oligosaccharides derived from dandelion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 64, 392–394. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.12.031>

Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., e Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: The interplay. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/761264>

Rao, N. (2003). Bioactive phytochemicals in Indian foods and their potential in health promotion and disease prevention. *Asia Pac J Clin Nutr*, 12, 9–22. <https://doi.org/10.1097/NRL.0b013e31815e4ac7>

Rehman, G., Hamayun, M., Iqbal, A., Khan, S. A., Khan, H., Shehzad, A., ... Lee, I. J. (2017). Effect of methanolic extract of dandelion roots on cancer cell lines and AMP-activated protein kinase pathway. *Frontiers in Pharmacology*, 8(NOV), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00875>

Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., e Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603–1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>

Rivera-Núñez D. *Taraxacum vulgare* (Lam.) Schrank = *Taraxacum officinale* Weber. In: Aritio LB, ed. La guía de incafo de las plantas útiles y venenosas de la Península Ibérica y Baleares (excluidas medicinales). Madrid: Incafo; 1991:1024 –1026.

Roberfroid, M. B. (1999). Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose Concepts in Functional Foods : The Case of Inulin and Oligofructose. *Nutritional and Health Benefits of Inulin and Oligofructose Conference*, (March), 1398–1401. <https://doi.org/10.1080/01494929.2012.700867>

Ross, S. (2000). Functional foods: The food and drug administration perspective. *American Journal of Clinical Nutrition*, 71(6 SUPPL.), 1–4. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.6.1735S>

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., e Jiménez, L. (2005). Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287–306. <https://doi.org/10.1080/1040869059096>

Schütz, K., Carle, R., e Schieber, A. (2006). *Taraxacum*-A review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(3), 313–323. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.021>

Shi, S., Zhao, Y., Zhou, H., Zhang, Y., Jiang, X., e Huang, K. (2008). Identification of antioxidants from *Taraxacum mongolicum* by high-performance liquid chromatography-diode array detection-radical-scavenging detection-electrospray ionization mass spectrometry and

nuclear magnetic resonance experiments. *Journal of Chromatography A*, 1209(1–2), 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.09.004>

Sigstedt, S. C., Hooten, C. J., Callewaert, M. C., Jenkins, A. R., Romero, A. E., Pullin, M. J., ... Steelant, W. F. A. (2008). Evaluation of aqueous extracts of *Taraxacum officinale* on growth and invasion of breast and prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*, 32(5), 1085–1090. <https://doi.org/10.3892/ijo.32.5.1085>

Simopoulos A.P. (1991). Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54(3), 438–463. Retrieved from <https://hdas.nice.org.uk/strategy/124016/8/EMBASE/21332241>

Sohn, J. H., Han, K.-L., Lee, S.-H., e Hwang, J.-K. (2005). Protective Effects of Panduratin A against Oxidative Damage of *tert*-Butylhydroperoxide in Human HepG2 Cells. *Biological e Pharmaceutical Bulletin*, 28(6), 1083–1086. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.1083>

Souci, S. W., Siegfried W., Fachmann, W., Kraut, H., Kirchhoff, E., Germany. Bundesministerium fur Verbraucherschutz, E. und L., e Deutsche Forschungsanstalt fur Lebensmittelchemie. (2008). *Food composition and nutrition tables : on behalf of the Bundesministerium fur Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz*. MedPharm Scientific Publishers.

Steffen, L., Jacobs, D., e Stevens, J. (2003). Associations of whole-grain, refined-grain, and fruit and vegetable consumption with risks of all-cause mortality and incident coronary artery disease and ischemic. *The American Journal*, (February). Disponível em: <http://ajcn.nutrition.org/content/78/3/383.short>

Stoll, A. L., Severus, W. E., Freeman, M. P., Rueter, S., Zboyan, H. A., Diamond, E., ... Marangell, L. B. (1999). Omega 3 Fatty Acids in Bipolar Disorder. *Archives of General Psychiatry*, 56(5), 407. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.56.5.407>

Tetty, C. O., Ocloo, A., Nagajyothi, P. C. N., e Lee, K. D. (2014). An in vitro analysis of antiproliferative and antimicrobial activities of solvent fractions of *Taraxacum officinale* (Dandelion) leaf. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 4(3), 41–45. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2014.40309>

Thatoi, H. N., Patra, J. K., e Das, S. K. (2014). Free radical scavenging and antioxidant potential of mangrove plants: A review. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36, 561–579. <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1438-z>

Thompson, L. U. (1993). Potential health benefits and problems associated with antinutrients in foods. *Food Research International*, 26(2), 131–149. [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(93\)90069-U](https://doi.org/10.1016/0963-9969(93)90069-U)

Trinh, N. Van, Dang, N. D.-P., Tran, D. H., e Pham, P. Van. (2016). *Taraxacum officinale*

dandelion extracts efficiently inhibited the breast cancer stem cell proliferation. *Biomedical Research and Therapy*, 7(1), 23–51. <https://doi.org/10.7603/s40>

Trojanová, I., Rada, V., Kokoška, L., e Vlková, E. (2004). The bifidogenic effect of *Taraxacum officinale* root. *Fitoterapia*, 75(7–8), 760–763. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2004.09.010>

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., e Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>

Vodnar, D. C., Călinoiu, L. F., Dulf, F. V., Ștefănescu, B. E., Crișan, G., e Socaciu, C. (2017). Identification of the bioactive compounds and antioxidant, antimutagenic and antimicrobial activities of thermally processed agro-industrial waste. *Food Chemistry*, 231, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.131>

Whelton, S. P., Hyre, A. D., Pedersen, B., Yi, Y., Whelton, P. K., e He, J. (2005). Effect of dietary fiber intake on blood pressure : a meta-analysis of randomized , controlled clinical trials. *Journal of Hypertension*, 23, 475–461.

Willcox, J. K., Ash, S. L., e Catignani, G. L. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4), 275–295. <https://doi.org/10.1080/10408690490468489>

Williams, C. A., Goldstone, F., e Greenham, J. (1996). Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry*, 42(1), 121–127. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00865-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00865-9)

Wrick, K. L. (2005). The Impact of Regulations on the Business of Nutraceuticals in the United States: Yesterday, Today, and Tomorrow. In *Regulation of Functional Foods and Nutraceuticals* (pp. 1–36). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470277676.ch1>

Yarnell, E., e Abascal, K. (2009). Dandelion (*Taraxacum officinale* and *T. mongolicum*). *Integrative Medicine*, 8(2), 35–38. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.02.027>

Yasukawa, K., Akihisa, T., Inoue, Y., Tamura, T., Yamanouchi, S., e Takido, M. (1998). Inhibitory effect of the methanol extracts from compositae plants on 12- O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced ear oedema in mice. *Phytotherapy Research*, 12(7), 484–487. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199811\)12:7<484::AID-PTR341>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199811)12:7<484::AID-PTR341>3.0.CO;2-L)

Young, A., e Lowe, G. (2018). Carotenoids—Antioxidant Properties. *Antioxidants*, 7(2), 28. <https://doi.org/10.3390/antiox7020028>

Zeisel, S. H. (1999). Regulation of “ Nutraceuticals.” *Science’s Compass*, 285(September

1999), 2.

Zhao, J. (2007). Nutraceuticals, Nutritional Therapy, Phytonutrients, and Phytotherapy for Improvement of Human Health: A Perspective on Plant Biotechnology Application. *Recent Patents on Biotechnology*, 1(1), 75–97. <https://doi.org/10.2174/187220807779813893>

CAPÍTULO II

Perfil fitoquímico de extratos aquosos e hidroalcoólicos de folhas do *Taraxacum hispanicum*

Resumo

Introdução: As plantas do género *Taraxacum* (dente-de-leão) contêm uma grande variedade de fitoquímicos, cujas atividades biológicas têm vindo a ser exploradas em diferentes áreas da saúde humana. Por sua vez, a composição do dente-de-leão também tem sido largamente estudada ao longo dos anos. No entanto, até ao momento não foram realizados estudos sobre a caracterização fitoquímica do *T. hispanicum*, que é uma espécie comum do Sul da Europa do género *Taraxacum*. Por essa razão, este trabalho tem como objetivo determinar o perfil fitoquímico de diferentes extratos de *T. hispanicum*.

Métodos: Trata-se de um estudo experimental, onde se testaram dois extratos de folhas de dente-de-leão (*T. hispanicum*), nomeadamente, um extrato aquoso e um extrato hidroalcoólico (80% V/V). O *screening* fitoquímico foi realizado, de acordo com a literatura, para a determinação de compostos fenólicos, polifenóis, flavonóides, taninos, terpenos, diterpenos, triterpenos, alcalóides e saponinas.

Resultados: observaram-se resultados positivos para os polifenóis, flavonóides, taninos e diterpenos, nos dois extratos estudados. Um resultado negativo foi observado para os triterpenos em ambos os extratos, tal como seria esperado. No caso de compostos fenólicos, os resultados de saponinas e alcalóides foram diferentes em ambos os extratos.

Discussão/Conclusão: O etanol e a água foram os solventes utilizados na extração. Os resultados observados podem ser explicados pela adequação dos solventes aquosos à extração de alguns compostos com forte polaridade. Por outro lado, o etanol e as misturas de água/etanol são adequadas para a extração de compostos com maior faixa de polaridade. Em relação aos resultados positivos para os polifenóis, flavonóides, taninos e diterpenos, alguns autores referem a presença de polifenóis (flavonóides) nas partes aéreas das espécies de dente-de-leão. Segundo a literatura, os fitoquímicos presentes nas folhas de *Taraxacum sp.* incluem terpenos (particularmente, lactonas sesquiterpénicas), compostos fenólicos e cumarinas. Para os resultados positivos encontrados para taninos e diterpenos, não há informações relacionadas à existência destes compostos no dente-de-leão. Entretanto, como *T. hispanicum* é uma espécie pouco estudada, estes podem ser compostos não caracterizados até o momento na planta. Em conclusão, são

necessários ensaios adicionais (por exemplo, técnicas cromatográficas) para complementar os resultados obtidos.

Palavras-chave: Dente-de-leão; *T. hispanicum*; Fitoquímicos; Solventes; Extratos.

Abstract

Introduction: Plants of the genus *Taraxacum* (dandelion) are a source of diverse phytochemicals, and its biological activities can be exploited in different areas of human health. Phytochemical composition of dandelion, in particular *T. officinale*, has been extensively studied over the years. However, to date no studies have been performed regarding *T. hispanicum* phytochemical characterization, which is a common South European specie of *Taraxacum*. For that reason, this work aims to determine the phytochemical profile of different extractive solutions of *T. hispanicum*.

Methods: Experimental study in which two extractive solutions of dandelion leaves were tested [aqueous and hydroalcoholic (80% V/V)]. Phytochemical screening was performed, according to the literature, for determination of phenolic compounds, polyphenols, flavonoids, tannins, terpenes, diterpenes, triterpenes, alkaloids and saponins.

Results: Phytochemical screening showed positive results for polyphenols, flavonoids, tannins and diterpenes, in both solutions studied. In contrast, a negative result for triterpenes in both extracts were expected. In the case of phenolic compounds, saponins and alkaloids results were different in both extracts.

Discussion/Conclusion: Ethanol and water were the solvents used in dandelion extraction. The results observed can be explained by the suitability of the aqueous solvents to an extraction of some bioactive compounds with strong polarity; on the other hand, ethanol and mixtures of water/ethanol are suitable to the extraction of compounds with a higher polarity range. Regarding the positive results for polyphenols, flavonoids, tannins and diterpenes, some authors referred the presence of polyphenols (namely flavonoids) in the aerial part of dandelion species. According to literature, phytochemicals present in leaves of *Taraxacum sp.* include terpenes (particularly, sesquiterpene lactones), phenolic compounds and coumarins. For the positive results found to tannins and diterpenes, there are no information related to the existence of these compounds in dandelion. However, because *T. hispanicum* is a specie poorly studied, these may be compounds not characterized to date in the plant. In conclusion, further assays are required (e.g. chromatographic techniques) in order to complement the obtained results.

KeyWords: Dandelion; *Taraxacum hispanicum*; Phytochemicals; Solvents; Extract

2.1. Introdução

As plantas medicinais sempre tiveram uma grande importância na cultura, medicina e alimentação humana. Como tal, ainda hoje continuam a ser utilizadas como recursos para o tratamento de doenças e como suplementos alimentares. Sabe-se que os compostos derivados de plantas constituem fontes promissoras de tratamentos alternativos, podendo levar a uma melhoria da eficácia e à redução de efeitos adversos, comparativamente com os fármacos convencionais. Como tal, tem havido um aumento de interesse pelos alimentos, nutracêuticos e produtos derivados de plantas ou outras fontes naturais com benefícios na saúde.

Conforme a composição química da planta, esta poderá ter uma ação biológica diferente no organismo humano (Ncube e Van Staden, 2015). As plantas têm a capacidade de sintetizar um grande número de metabolitos secundários, com uma composição química complexa, produzidos em resposta a diferentes formas de stress, assim como para a atração de polinizadores, o estabelecimento de simbioses, entre outras funções (Ncube e Van Staden, 2015). Além disso, muitos metabolitos secundários produzidos pelas plantas são usados na indústria farmacêutica (uma vez que estes compostos bioativos podem desencadear um efeito farmacológico ou toxicológico nos humanos e animais), em cosméticos, na alimentação, corantes, fragâncias e suplementos alimentares (Guerriero et al., 2018).

De entre os compostos bioativos presentes nas plantas e com importantes atividades biológicas, destacam-se os compostos fenólicos (onde se incluem, por exemplo, os flavonóides e taninos) e os alcaloides (Mir et al., 2013). A extração de metabolitos secundários de fontes vegetais é, atualmente, um importante foco de pesquisa. A presença nas plantas de vários grupos de compostos com diferentes estruturas químicas e polaridades resulta no uso de diversos solventes, no processo extrativo, como por exemplo, água, metanol, etanol, acetona e hexano (Al-Farsi e Lee, 2008). Além disso, é igualmente importante a escolha do processo extrativo, onde devemos ter em consideração a seletividade dos compostos de interesse, o volume de solvente utilizado, a toxicidade do solvente, o tempo de extração e o custo (Dent et al., 2013).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) apoia o uso da medicina tradicional, onde se inclui o uso de plantas, desde que comprovada a sua segurança e eficácia (OMS, 1999). Posto isto, existe uma necessidade de investigar novas alternativas aos fármacos convencionais, nomeadamente plantas com atividades biológicas ainda por explorar.

As plantas do género *Taraxacum*, conhecidas vulgarmente por dente-de-leão e onde se inclui o *T. officinale* são plantas usadas há vários anos na medicina tradicional. A raiz está indicada no tratamento de disfunções gastrointestinais, como adjuvante na digestão e na função hepática; por sua vez a folha é utilizada como estimulante digestivo e diurético (Mir et al., 2013). As folhas do dente-de-leão são ricas em fibras, ferro, potássio, cálcio, magnésio, fosfora, vitamina A e C, vitaminas do complexo B (tiamina e riboflavina). Além disso, contêm ainda lactonas sesquiterpénicas que conferem um sabor amargo à planta, especialmente notável na folha, mas também na raiz. Estes compostos também explicam o aumento na produção de bÍlis observado em animais (Lima et al., 2007). Para além das lactonas sesquiterpénicas, as raÍzes e partes aéreas contêm compostos fenólicos, como por exemplo, ácidos fenólicos, cumarinas e flavonóides) (González-Castejón et al., 2012).

Apesar de existirem vários estudos relativos à caracterização da espécie *T. officinale*, são praticamente inexistentes os estudos com a identificação do perfil fitoquímico da espécie *T. hispanicum*. Como tal, face à importância atual de se conhecer a composição química das plantas, este estudo tem como principal objetivo determinar o perfil fitoquímico do extrato aquoso e hidroalcoólico das partes aéreas do *T. hispanicum*.

2.2. Métodos

Trata-se de um estudo experimental, realizado nas instalações do Centro de Investigação em Saúde e Ambiente, da Escola Superior de Saúde do Politécnico do Porto (CISA, ESS-P.Porto).

2.2.1. Reagentes

Para o estudo experimental foram utilizados os seguintes reagentes provenientes da VWR (Portugal): etanol absoluto, cloreto férrico, Follin-Ciocalteu, carbonato de sódio, amoníaco, acetato de chumbo, clorofórmio, ácido sulfúrico, acetato de cobre III, anidrido acético e reagente de Drangendorff.

2.2.2. Recolha da planta e preparação dos extratos

As partes aéreas da espécie *T. hispanicum* usadas no estudo foram recolhidas em Vila Nova de Gaia (Portugal), em maio 2016 e devidamente identificadas em termos botânicos. As partes aéreas foram lavadas com água corrente, secas em estufa (40 °C) tendo sido armazenadas à temperatura ambiente, no escuro, até utilização. No momento da extração foram trituradas em moinho.

Para a realização do extrato aquoso, pesou-se 75 g de pó da planta e macerou-se em água destilada por 24 horas, à temperatura ambiente e no escuro. A solução extrativa foi filtrada utilizando papel de filtro (Whatman, Nº 1).

Para a realização do extrato hidroalcoólico, pesou-se 75 g de pó da planta e maceou-se em solução hidroalcoólica (80:20, V/V), à temperatura ambiente e no escuro, durante 4 dias. A mistura foi depois filtrada com papel de filtro (Whatman Nº 1). Os extratos foram conservados no frio (-20 °C) para posterior utilização.

2.2.3. Caracterização fitoquímica dos extratos de *T. hispanicum*

Os extratos obtidos foram utilizados para determinar a presença ou não dos principais grupos de fitoquímicos descritos nas partes aéreas da planta. Foram realizados diferentes ensaios para pesquisa de compostos fenólicos, polifenóis, flavonóides, taninos, saponinas, terpenos, diterpenos, triterpenos e alcalóides. Todos os ensaios foram feitos em triplicado.

2.2.3.1. *Compostos fenólicos*

Para a determinação dos compostos fenólicos realizou-se o ensaio segundo (Mir et al., 2013) com algumas alterações. A 2,5 mL de cada um dos extratos foram adicionadas cinco gotas de cloreto férrico a 5%. O resultado positivo foi obtido por observação de uma coloração verde escura.

2.2.3.2. *Polifenóis*

O ensaio para determinação dos polifenóis foi realizado segundo o procedimento descrito por (Megzari et al., 2015). Como tal, a 100 µL de cada um dos extratos adicionou-se 500 µL de reagente Folin-Ciocalteu (diluído 10 vezes) e 400 µL de solução carbonato de sódio (Na₂CO₃) (75 mg/dL). Em seguida incubou-se durante duas horas à temperatura ambiente. O resultado positivo foi obtido por observação de cloração azul escura.

2.2.3.3. *Flavonóides*

No ensaio dos flavonóides adicionou-se acetato de chumbo (5%) a 2,5 mL de cada um dos extratos, com base no procedimento descrito por (Tiwari et al., 2011). O resultado positivo foi obtido por observação de um precipitado de coloração amarela.

2.2.3.4. *Taninos*

Para a identificação dos taninos utilizou-se 2,5 mL de cada extrato e adicionou-se cinco gotas de cloreto férrico (1%), com base no procedimento descrito por (Ayoola et al., 2008). O resultado é considerado positivo pelo aparecimento de coloração verde-acastanhada ou azul-preto.

2.2.3.5. *Saponinas*

No ensaio de identificação de saponinas, a 5 mL de cada extrato adicionou-se 5 mL de água destilada, seguindo-se a agitação vigorosa da solução. A formação

de uma espuma persistente por pelo menos 15 minutos indica a presença de saponinas (Njoku, 2011).

2.2.3.6. *Terpenóides*

A presença de terpenóides foi realizada segundo o procedimento de (Chandralega et al., 2015). Para tal, foram misturados 2 mL de clorofórmio a 5 mL de cada um dos extratos. Em seguida adicionou-se 3 mL de ácido sulfúrico de forma a formar uma camada. A formação de coloração castanha-avermelhada da interface é indicadora da presença de terpenóides.

2.2.3.7. *Diterpenos*

No ensaio dos diterpenos foram adicionadas dez gotas de solução de acetato de cobre a 5% (Patil et al., 2015) a cada uma dos extratos. A presença de diterpenos pode ser observada pelo aparecimento de coloração verde-esmeralda.

2.2.3.8. *Triterpenos*

Para detetar a presença de triterpenóides realizou-se o ensaio de Liebermann-Burchard, segundo o descrito por (Iqbal et al., 2015), com algumas alterações. Primeiro adicionou-se cinco gotas de clorofórmio a 1 mL de cada extrato, agitando de seguida. Adicionou-se cinco gotas de anidrido acético, fervendo-se e arrefecendo as soluções com gelo. Por último, adicionou-se 2 mL de ácido sulfúrico a cada tubo de ensaio. A formação de um anel castanho na união entre as duas camadas é indicativa de resultado positivo.

2.2.3.9. *Alcalóides*

O ensaio para identificação de alcalóides foi realizado segundo o descrito por (Megzari et al., 2015), com algumas alterações. Como tal, a 2,5 mL de cada um dos extratos adicionou-se duas gotas de reagente Dragendroff. O resultado positivo foi observado pelo aparecimento de um precipitado vermelho.

2.2.4. Determinação do teor de Compostos Fenólicos

O teor de compostos fenólicos foi determinado pelo método de Folin–Ciocalteu de acordo com a literatura (Lister e Wilson, 2001), com algumas alterações. Resumidamente, a 500 µL de cada um dos extratos diluídos adicionou-se 2,5 mL de reagente Folin–Ciocalteu (diluição 1:10) e 2 mL de carbonato de sódio (75 g/L). Após 15 minutos de incubação a 45°C, a absorvância das misturas foi medida a 760 nm. O ácido gálico foi utilizado como controlo, e os resultados expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (mg GAE)/g por massa seca de planta.

2.3. Resultados e Discussão

A atividade medicinal das plantas reside nas substâncias químicas presentes na sua composição que, por sua vez, têm uma ação fisiológica definida no organismo humano. Por exemplo, os alcalóides protegem o organismo contra muitas doenças crónicas, as saponinas atuam na redução do colesterol e têm ação antimicrobiana, os esteróides e triterpenos têm propriedades analgésicas e anti-inflamatórias (Mir et al., 2013).

No estudo prepararam-se dois extratos recorrendo a solventes de diferentes polaridades e, posteriormente, realizaram-se ensaios de identificação fitoquímica. Os resultados encontrados permitem observar o diferente potencial extrativo dos solventes etanol e água sobre folhas de *T. hispanicum*.

A tabela seguinte resume os principais resultados obtidos para os dois extratos vegetais de dente-de-leão analisados. Assim, obteve-se um resultado positivo, em ambos os extratos, para a presença de polifenóis, flavonóides, taninos, terpenos e diterpenos. Por outro lado, obteve-se um resultado negativo para a presença de triterpenos, em ambos os extratos analisados. Observaram-se ainda diferenças no perfil fitoquímico, consoante o extrato estudado, nomeadamente, um resultado positivo para os compostos fenólicos, saponinas e alcalóides apenas no caso do extrato hidroalcoólico (Tabela I).

No caso dos resultados positivos para ambos os extratos (polifenóis, flavonóides, taninos, terpenos e diterpenos), sabe-se que o dente-de-leão contém na parte aérea da

planta polifenóis, nomeadamente flavonóides (González-Castejón et al., 2012). Segundo Williams et al., (1996) os constituintes químicos presentes nas folhas de dente-de-leão são compostos terpénicos (em particular, lactonas sesquiterpénicas), diferentes polifenóis e cumarinas (Williams et al., 1996).

O conteúdo de polifenóis é maior nas partes aéreas (folhas e flores) da planta ($9,9 \pm 0,28$ g de polifenóis por 100 g de extrato) face às raízes ($0,086 \pm 0,003$ g de polifenóis por 100 g de extrato (Hagymási et al., 2000a; Hagymási et al., 2000b; Williams et al., 1996). Alguns ácidos fenólicos foram identificados por toda a planta, enquanto que as cumarinas (chicoriina e esculina) foram identificadas apenas nos extratos de folhas (Budzianowski, 1997; Schütz et al., 2005).

Tabela I. Perfil fitoquímico para os extratos estudados de *T. hispanicum*.

Grupos de compostos	Resultado Positivo	Resultados Obtidos	
		Extrato Aquoso	Extrato Hidroalcoólico
Polifenóis	Coloração verde escura	Positivo	Positivo
Compostos Fenólicos	Coloração azul escura	Negativo	Positivo
Flavonóides	Precipitado amarelo	Positivo	Positivo
Taninos	Coloração verde-acastanhada ou azul-preto	Positivo	Positivo
Saponinas	Espuma Persistente	Negativo	Positivo
Terpenóides	Coloração castanha-avermelhada da interface	Positivo	Positivo
Diterpenos	Coloração verde-esmeralda	Positivo	Positivo
Triterpenóides	Anel castanho na união entre as duas camadas (coloração vermelha profunda)	Negativo	Negativo
Alcalóides	Precipitado vermelho	Negativo	Positivo

No caso dos flavonóides já foram identificados nas flores de *T. officinale* (Hu e Kitts, 2005), o que vai de encontro aos resultados encontrados no trabalho com o *T. hispanicum*. No caso dos flavonóides (ex.: luteolina-7-O-glucósido, luteolina-7-O-rutinósido, isoramnetina-3-O-glucósido, quercetina-7-O-glucósido, e apigenina-7-O-glucósido apenas foram encontrados nas folhas do dente-de-leão (Kristó et al., 2002; Williams et al., 1996; Wolbis et al., 1993; Wolbis e Krolikowska, 1985).

No caso dos resultados positivos para os taninos e os diterpenos, a literatura não dispõe de dados concordantes com os encontrados no estudo. No entanto, uma vez que se trata de um estudo realizado com uma espécie vegetal do género *Taraxacum* pouco estudada em termos fitoquímicos, poderão ser compostos ainda não caracterizados no *T. hispanicum*.

No caso dos triterpenos os resultados deram negativo para ambos os extratos. Apesar de alguns autores terem relatado a presença triterpenos/fitosteróis na planta, estes parecem surgir em maior quantidade nas raízes (ex: taraxasterol, arnidiol, faradiol, α -amirina, β -amirina, β -sitosterol e β -sitosterol- β -D-glucopiranosídeo (Akashi et al., 1994; Burrows e Simpson, 1938; Hänsel et al., 1980; Schütz et al., 2006). Como tal, com os ensaios qualitativos realizados pode não ter sido possível a identificação destes compostos na parte aérea da planta.

No caso dos compostos fenólicos, saponinas e alcalóides os resultados foram diferentes em ambos os extratos, só aparecendo no extrato hidroalcoólico. O etanol e a água são solventes comuns utilizados para a produção de extratos de dente-de-leão (Laranjeira et al., 2017). O etanol é um solvente capaz de extrair uma grande quantidade de constituintes de interesse, pois apresenta um carácter anfifílico, permitindo a extração tanto de substâncias com características apolares quanto polares. Os alcalóides apresentam afinidade para extração com solúveis etanólicos e pouco com a água (Azwanida, 2015), o que se verifica neste estudo.

No caso dos compostos fenólicos, a tabela seguinte evidência os valores calculados para os extratos de *T. hispanicum* (Tabela II). Os valores encontrados foram superiores no extrato hidroalcoólico, face ao extrato aquoso. Estes dados podem ajudar a explicar os resultados obtidos no *screening* fitoquímico, onde apenas se obteve um resultado positivo para os compostos fenólicos, no extrato hidroalcoólico.

Tabela II. Total de compostos fenólicos para os dois extratos de *T. hispanicum* analisados.

Planta	<i>T. hispanicum</i>	
	Extrato aquoso	Extrato hidroalcoólico
Compostos Fenólicos (mg GAE)/g massa seca da planta	35,4 ± 2,1	57,1 ± 2,6

Os resultados encontrados nos ensaios realizados podem dever-se ao facto de que os solventes aquosos são adequados para a extração de alguns compostos bioativos com forte polaridade; o etanol e misturas de etanol e água são preferíveis para a extração de compostos com uma maior gama de polaridade (Sun et al., 2015). Os compostos fenólicos caracterizam-se por ter pelo menos um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilo ligados. A diversidade de estruturas químicas dos compostos fenólicos varia de formas simples a polimerizadas (ex.: taninos e polifenóis derivados), o que consequentemente influencia os seus comportamentos em termos de solubilidade (Crozier et al., 2007). Como tal, solventes mais polares (ex.: metanol) são geralmente utilizados para a extração de compostos fenólicos medianamente polares e polares como os glicósidos de flavonóides e ácidos fenólicos (Harborne, 1998). O facto de os compostos fenólicos incluírem uma gama diversificada de metabolitos pode justificar o resultado obtido nos ensaios (resultado positivo apenas nos extratos hidroalcoólicos). Alguns autores têm sido concordantes com os resultados observados neste estudo, relativamente aos compostos fenólicos. Por exemplo, no seu estudo, Seo et al., (2014) demonstrou que o conteúdo em compostos fenólicos de folhas de *Psidium guajava* L. em extratos utilizando uma mistura de etanol e água foi superior ao observado com os extratos aquosos (Seo et al., 2014). Por sua vez, Ivanov (2014) demonstrou que a maior concentração de polifenóis totais (33,90 ± 0,57 mg GAE/ g peso seco) foi obtida com a extração etanólica (50%) das folhas de *T. officinale* (Ivanov, 2014).

Um bom solvente é caracterizado pela sua boa capacidade de extração e pela sua capacidade em conservar a estabilidade da estrutura química dos compostos a extrair (Harborne, 1998). Como tal, o tipo de solvente e a sua polaridade pode ter um impacto significativo no nível de polifenóis extraídos. No caso dos polifenóis, as polaridades vão do polar ao não polar e a extração ótima de polifenóis é geralmente obtida com solventes polares que têm uma boa eficiência de solvatação, como resultado de interações (pontes de hidrogénio) entre os locais polares dos compostos antioxidantes e solvente. Como tal, a água e misturas aquosas de metanol/etanol são frequentemente utilizadas para a obtenção dos polifenóis (Liu et al., 2007).

2.4. Conclusão

A extração por solventes é uma técnica frequentemente utilizada para a obtenção de compostos provenientes das plantas. No entanto, o rendimento dos extratos e as atividades resultantes das matérias vegetais estão dependentes na natureza do solvente utilizado na extração. Isto deve-se à presença de compostos com diferentes características químicas e polaridades, que podem ou não ser solúveis num determinado solvente. Os solventes polares, incluindo misturas água/etanol, são frequentemente utilizados para a extração de polifenóis de uma matriz vegetal. A determinação do perfil fitoquímico no *T. hispanicum* foi semelhante à encontrada noutras espécies de plantas do género *Taraxacum*, à exceção da presença dos diterpenos, taninos e alcalóides. No entanto, mais estudos deveriam ser feitos, com técnicas mais sensíveis, no sentido de determinar com mais segurança os compostos presentes na planta.

2.5. Referências

Akashi, T., Furuno, T., e Takahashi, T. (1994). Biosynthesis of triterpenoids in cultured cells, and regenerated and wild plant organs of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry*, 36(2), 303–308.

Al-Farsi, M. A., e Lee, C. Y. (2008). Nutritional and functional properties of dates: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(10), 877–887.
<https://doi.org/10.1080/10408390701724264>

Ayoola, G., Coker, H., Adesegun, S., Adepoju-Bello, A., Obaweya, K., Ezennia, E., e Atangbayila, T. (2008). Phytochemical Screening and Antioxidant Activities of Some Selected Medicinal Plants Used for Malaria Therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(September), 1019–1024. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v7i3.14686>

Azwanida, N. N. (2015). A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 04(03), 3–8. <https://doi.org/10.4172/2167-0412.1000196>

Budzianowski, J. (1997). Coumarins, caffeoyltartaric acids and their artifactual methyl esters from *Taraxacum officinale* leaves. *Planta Medica*, 63(3), 288. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957681>

Burrows, S., e Simpson, J. (1938). The triterpene alcohols of *Taraxacum* root. The triterpene group Part IV. *Chem Soc (Part II)*., 2042–2047.

Chandralega, N., Subha, D., e Geetha, N. (2015). Effect of Geographical Distributions on the Phytochemical Profile of Methanolic Extract of Dried Leaves of *Rosmarinus officinalis* L. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(10), 1959–1970.

Crozier, A., Jaganath, I. B., e Clifford, M. N. (2007). Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*, (i), 1–24. <https://doi.org/10.1002/9780470988558.ch1>

Dent, M., Dragovi, V., Peni, M., e Brn, M. (2013). The Effect of Extraction Solvents , Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols in Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L .) Extracts, 9862(1), 84–91.

González-Castejón, M., Visioli, F., e Rodriguez-Casado, A. (2012). Diverse biological activities of dandelion. *Nutrition Reviews*, 70(9), 534–547. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00509.x>

Guerriero, G., Berni, R., Muñoz-sanchez, J. A., Apone, F., Abdel-salam, E. M., Qahtan, A. A., ... Cantini, C. (2018). Production of Plant Secondary Metabolites : Examples , Tips and Suggestions for Biotechnologists. <https://doi.org/10.3390/genes9060309>

Hagymási, K., Blázovics, A., Fehér, J., Lugasi, A., Kristó, S. T., e Kéry, Á. (2000). The in vitro effect of dandelions antioxidants on microsomal lipid peroxidation. *Phytotherapy Research*, 14(1), 43–44. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(200002\)14:1<43::AID-PTR522>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(200002)14:1<43::AID-PTR522>3.0.CO;2-Q)

Hagymási, K., Lugasi, A., Kéry, Á., Blázovics, A., Lugasi, A., Kristó, S. T., ... Kéry, Á. (2000). In vitro antioxidant evaluation of dandelion (*Taraxacum officinale* Web.) water extracts. *Acta Alimentaria*, 29(1), 1–7. <https://doi.org/10.1556/AAlim.29.2000.1.1>

Hänsel, R., Kartarahardja, M., Huang, J. T., e Bohlmann, F. (1980). Sesquiterpenlacton- β -d-glucopyranoside sowie ein neues eudesmanolid aus *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry*, 19(5), 857–861. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(80\)85126-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)85126-0)

Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods : a guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall.

Hu, C., e Kitts, D. D. (2005). Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 12(8), 588–597. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.12.012>

Iqbal, E., Salim, K. A., e Lim, L. B. L. (2015). Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam. *Journal of King Saud University - Science*, 27(3), 224–232. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2015.02.003>

Ivanov (2014). Polyphenols Content and Antioxidant Activities of *Taraxacum officinale* F.H. Wigg (Dandelion) Leaves

Kristó, S. T., Ganzler, K., Apáti, P., Szőke, É., e Kéry, Á. (2002). Analysis of antioxidant flavonoids from asteraceae and moraceae plants by capillary electrophoresis. *Chromatographia*, 56(1), S121–S126. <https://doi.org/10.1007/BF02494124>

Laranjeira, C., Nogueira, A., Almeida, R., Oliveira, R., Oliveria, A., Pinho, C., e Cruz, A. (2017). Antioxidant Activity and Cytotoxicity of *Taraxacum hispanicum* Aqueous and Ethanolic Extracts on HepG2 Cells. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(1), 5–12. <https://doi.org/10.25258/ijpapr.v9i1.8032>

Lima, C. F., Valentao, P. C. R., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Fernandes-Ferreira, M., e Pereira-Wilson, C. (2007). Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 167(2), 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.01.020>

Lister, E., e Wilson, P. (2001). Measurement of total phenolics and ABTS assay for antioxidant activity (personal communication). Crop Research Institute, Lincoln, New Zealand

Liu, X., Dong, M., Chen, X., Jiang, M., Lv, X., e Yan, G. (2007). Antioxidant activity and phenolics of an endophytic *Xylaria* sp. from *Ginkgo biloba*. *Food Chemistry*, *105*(2), 548–554. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.008>

Megzari, A., Farah, A., Iraqui Houssaini, M., Haouat Amina, C., Bergadi Fatimzohra, E., e Mestafa EL Hadrami, E. (2015). Study Of The Individuality Effect On The Antibacterial Activity And Phytochemical Screening Of The *Rosmarinus officinalis* Var. *Prostatatus* Extracts Obtained By The Ultrassounds. *International Journal of Current Research*, *7*(05), 16407–16413.

Mir, A., Sawhney, S., e Jassal, M. (2013). Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals of *Taraxacum officinale*. *Wudpecker Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *2*(1), 1–5.

Ncube, B., e Van Staden, J. (2015). Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit. *Molecules*, *20*(7), 12698–12731. <https://doi.org/10.3390/molecules200712698>

Njoku. (2011). Phytochemical constituents of some selected medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, *10*(66), 228–233. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1948>

Organización Mundial de la Salud. Traditional, Complementary and Alternative Medicines and Therapies. Washington DC, Oficina Regional de la OMS para las Américas/Organización Panamericana de la Salud (grupo de trabajo OPS/OMS), 1999

Patil, R. S., Harale, P. M., Shivangekar, K. V., Kumbhar, P. P., e Desai, R. R. (2015). Phytochemical potential and in vitro antimicrobial activity of *Piper betle* Linn. leaf extracts. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, *7*(5), 1095–1101.

Schütz, K., Carle, R., e Schieber, A. (2006). *Taraxacum*-A review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology*, *107*(3), 313–323. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.07.021>

Schütz, K., Kammerer, D. R., Carle, R., e Schieber, A. (2005). Characterization of phenolic acids and flavonoids in dandelion (*Taraxacum officinale* WEB. ex WIGG.) root and herb by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, *19*(2), 179–186. <https://doi.org/10.1002/rcm.1767>

Seo, J., Lee, S., Elam, M. L., Johnson, S. A., Kang, J., e Arjmandi, B. H. (2014). Study to find the best extraction solvent for use with guava leaves (*Psidium guajava* L.) for high antioxidant efficacy. *Food Science & Nutrition*, 2(2), 174–180. <https://doi.org/10.1002/fsn3.91>

Sun, C., Wu, Z., Wang, Z., e Zhang, H. (2015). Effect of Ethanol / Water Solvents on Phenolic Profiles and Antioxidant Properties of Beijing Propolis Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 9

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., e Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1).

Williams, C. A., Goldstone, F., e Greenham, J. (1996). Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry*, 42(1), 121–127. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00865-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00865-9)

Wolbis, M., e Krolikowska, M., (1985). Polyphenolic compounds of dandelion (*Taraxacum officinale*). *Acta Poloniae Pharmaceutica* 42, 215

Wolbis, M., Krolikowska, M., e Bednarek, P., (1993). Polyphenolic compounds in *Taraxacum officinale*. *Acta Poloniae Pharmaceutica—Drug Research* 50, 153–158

CAPÍTULO III

Efeito dos solventes, tamanho das partículas, técnica extrativa, tempos e temperaturas de extração na atividade antioxidante do *Taraxacum hispanicum*

RESUMO

Introdução: As plantas do género *Taraxacum* são utilizadas há anos na medicina e como alimento. Este género, com uma taxonomia complexa, inclui algumas espécies de difícil distinção, onde se inclui o *T. hispanicum*. As folhas das plantas, conhecidas como dente-de-leão, continuam a ser utilizadas em infusões, extratos etanólicos, ou sob a forma de suco. Uma vez que a planta representa uma importante fonte de moléculas farmacologicamente ativas, nomeadamente com atividade antioxidante, é importante o desenvolvimento de procedimentos extrativos que permitam maximizar os seus potenciais benefícios para a saúde. Assim, o trabalho tem como principal objetivo avaliar o efeito dos solventes, tamanho das partículas, técnicas extrativas, tempos e temperaturas de extração na atividade antioxidante do *T. hispanicum*.

Métodos: Estudo experimental com análise dos seguintes fatores, tipo de solvente (água destilada e água da torneira), tamanho das partículas (grosseiro e pó), técnica extrativa (infusão, maceração e cozimento), temperatura (60 °C e 100 °C) e tempo de extração (3, 10 e 20 minutos). A atividade antioxidante da planta *T. hispanicum* foi analisada segundo três métodos distintos, nomeadamente, o ensaio do radical DPPH, o ensaio do radical superóxido e o ensaio de quelação do ferro. Para todos os ensaios calculou-se o valor de IC₅₀.

Resultados/Discussão: Para todos os ensaios realizados e todas as variáveis testadas obteve-se o menor valor de IC₅₀ para o processo extrativo efetuado com a temperatura de 60 °C (planta em pó), seguido do processo extrativo maceração (planta em pó), com o ensaio do superóxido ($4,6 \pm 4,6 \mu\text{g/mL}$ e $17,20 \pm 0,6 \mu\text{g/mL}$, respetivamente). Em ambos os casos, o valor encontrado foi inferior ao valor de IC₅₀ do controlo positivo (ácido ascórbico - $77,5 \pm 10,9 \mu\text{g/mL}$). Estes extratos foram realizados com água destilada que apresentou melhor valor de IC₅₀ face à água da torneira. Neste caso, os polifenóis combinam-se com iões de Ca²⁺ e Mg²⁺ de forma a serem parcialmente retidos no resíduo do solvente, o que pode explicar os melhores resultados para a água destilada. Quanto à temperatura, o melhor valor de IC₅₀ obteve-se com os 60 °C. Certos compostos fenólicos podem sofrer desnaturação a altas temperaturas. Por sua vez, as partículas reduzidas a pó aumentam a superfície de contato entre as amostras e os solventes de extração o

que pode aumentar o rendimento extrativo e, conseqüentemente, a sua capacidade antioxidante.

Conclusão: A utilização de água destilada, tamanhos reduzidos das partículas, temperaturas mais baixas e tempos mais prolongados de extração (20 minutos) parecem ser bons fatores para os processos extrativos do dente-de-leão, podendo afetar a sua atividade antioxidante. No entanto, seria importante a realização de mais ensaios para avaliação da atividade antioxidantes, assim como a determinação do teor de compostos fenólicos de forma a relacioná-los com a sua atividade antioxidante.

Palavras-chave: Atividade antioxidante; Compostos fenólicos; Dente-de-leão; Solvente; Tamanho Partículas; *T. hispanicum*; Temperatura; Tempo

Abstract

Introduction: Plants of the genus *Taraxacum* have been used for years in medicine and food. This genus, with a complex taxonomy, includes some species of difficult distinction, where *T. hispanicum* is included. The leaves of these plants, known as dandelion, continue to be used as infusions, ethanolic extracts, or as juice. Since the plant represents an important source of pharmacologically active molecules, namely antioxidant activity, it is important to develop extractive procedures to maximize its potential health benefits. Thus, the main objective of this work is to evaluate the effect of solvents, extraction techniques, particle size, extraction times and temperatures on the antioxidant activity of *T. hispanicum*.

Methods: Experimental study with analysis of the following factors, solvent type (distilled water and tap water), particle size (large particles and powder), extractive technique (infusion, maceration and decoction), temperature (60 °C and 100 °C) and extraction time (3, 10 and 20 minutes). The antioxidant activity of *T. hispanicum* was analyzed using different methods, namely DPPH radical assay, superoxide and iron chelation assay. For all assays the IC₅₀ value was calculated.

Results/ Discussion: The lowest value of IC₅₀ was obtained for the extraction process carried out with the temperature of 60 °C (powder), followed by the maceration process (powder) with the superoxide assay ($4.6 \pm 4.6 \mu\text{g} / \text{mL}$ and $17.20 \pm 0.6 \mu\text{g} / \text{mL}$, respectively). In both cases, the value was lower than the IC₅₀ value for positive control (ascorbic acid - $77.5 \pm 10.9 \mu\text{g} / \text{mL}$). These extracts were made with distilled water that presented better value of IC₅₀ than tap water. In this case, polyphenols can combine with Ca²⁺ and Mg²⁺ and be partially retained in the solvent residue, which may explain the best results for distilled water. Regarding the temperatures analyzed, the best IC₅₀ value was obtained at 60 °C. Certain phenolic compounds may undergo denaturation at high temperatures. Also, the reduced particles increase the contact surface between samples and extraction solvents which can increase the extractive yield and, consequently, its antioxidant capacity.

Conclusion: The use of distilled water, reduced particle sizes, lower temperatures and longer extraction times (20 minutes) appear to be good factors for the extractive processes of dandelion, affecting its antioxidant activity. It would be important to carry out other antioxidant assays and the determination of total content of phenolic compounds in order to relate it to antioxidant activity.

Keywords: Antioxidant activity; Dandelion; Extraction Time; Particle Size; Phenolic Compounds; Solvent; *T. hispanicum*; Temperature

3.1. INTRODUÇÃO

As plantas têm sido usadas ao longo dos tempos para o tratamento de várias doenças. Estima-se que 80% da população mundial que vive em países em desenvolvimento dependa das plantas como fontes primárias de cuidados de saúde e práticas médicas tradicionais (OMS). As plantas do género *Taraxacum* desempenham um papel importante na medicina tradicional chinesa, árabe e nativa americana, sendo as suas folhas e raízes frequentemente utilizadas para tratar tumores de pulmão, mama e útero, bem como hepatite e algumas doenças digestivas (González-Castejón et al., 2012).

Os agentes antioxidantes são amplamente utilizados como aditivos alimentares como forma de proteção contra a degradação oxidativa provocada pelos radicais livres (Dubost et al. 2007; Li et al. 2009). Os antioxidantes podem ser encontrados nas plantas, resultando na prevenção de uma variedade de processos fisiopatológicos (Matés et al, 2000).

As plantas do género *Taraxacum* têm demonstrado atividade antioxidante, sendo muitos os estudos a referir este efeito (Hagymási et al., 2000; Hu e Kitts, 2005; Laranjeira et al., 2017). Os extratos de folhas e raízes diminuem a peroxidação lipídica e reduzem o citocromo c (Hagymási et al., 2000). O teor de compostos fenólicos presente nos extratos de dente-de-leão parecem ser responsáveis pela inibição dos danos induzidos pelas espécies reativas de oxigénio e azoto (Hu e Kitts, 2005).

O dente-de-leão encontra-se atualmente comercializado sob diversas formas, entre as quais se destacam os suplementos alimentares e a planta para a preparação de infusão. Sendo a infusão uma forma tradicional de utilização da planta, torna-se crucial otimizar esta técnica extrativa, de forma a obter o maior rendimento de compostos presentes na planta, consequentemente, a sua maior capacidade antioxidante. O método de extração deve apresentar algumas características para ser considerado ideal. Deve ser o método mais simples possível, evitando procedimentos desnecessários ou não viáveis. Muitos fatores podem influenciar a extração de compostos antioxidantes nas plantas, nomeadamente, o tamanho das partículas, o solvente extrator, o tempo de contacto entre o solvente e a planta e a temperatura do processo (Vongsak et al., 2013).

O tipo de solvente e a sua polaridade têm influência direta e podem afetar a transferência de eletrões e de átomos de hidrogénio, determinantes para a capacidade antioxidante dos extratos (Oldoni et al., 2015). O tempo de contacto entre a planta e o solvente também influenciam os compostos extraídos, pois quanto maior o tempo de contacto maior a possibilidade de oxidação dos compostos fenólicos (Andreo e Jorge, 2006). Por sua vez, a temperatura tem influência direta no processo de extração dos compostos bioativos e em alguns casos o seu aumento pode resultar na degradação de componentes, reduzindo o rendimento da extração.

As diferenças na estrutura dos compostos fenólicos também determinam a sua solubilidade nos solventes com diferentes polaridades. Como tal, o tipo de extração por solventes pode ter um impacto significativo no rendimento da extração de compostos fenólicos do material vegetal. Existem alguns estudos relativos à otimização das condições de extração do teor de compostos fenólicos e às atividades antioxidantes de algumas plantas. No entanto, os estudos também indicam que o procedimento ideal é geralmente diferente para diferentes matrizes vegetais (Pellegrini et al., 2007; Rababah et al., 2010).

Como tal, este trabalho tem como principal objetivo discutir o efeito de diferentes solventes, tamanho das partículas, tempos e temperaturas de extração na atividade antioxidante do extrato de folhas de dente-de-leão (*T. hispanicum*).

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1. Reagentes

Foram utilizados os seguintes reagentes: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), etanol absoluto, ferrozina, sulfato de Ferro (FeSO_4), azul de nitrotetrazólio (NBT), dinucleótido de nicotinamida e adenina (NADH), metassulfato de fenazina (PMS), quercetina, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e o fosfato monopotássico (KH_2PO_4) à Sigma-Aldrich (St. Louis, Estados Unidos da América). O ácido ascórbico e o piruvato foram adquiridos à Panreac (Barcelona, Espanha). Todos os outros reagentes não especificados foram adquiridos à VWR (Portugal).

3.2.2. Material Vegetal e Preparação dos Extratos

As partes aéreas do *T. hispanicum* utilizadas neste estudo foram recolhidas em Vila Nova de Gaia (Portugal) durante o mês de maio de 2016, identificadas e autenticadas por um especialista da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto (FCUP), Portugal. Um espécime de comprovante foi mantido no herbário da instituição (PO-V62372). As partes aéreas foram lavadas com água corrente, secas em estufa (40 °C) tendo sido armazenadas à temperatura ambiente, no escuro, até utilização.

3.2.3. Fatores estudados

No trabalho estudou-se a influência de diferentes fatores na extração dos compostos do *T. hispanicum*. Os fatores e respetivos procedimentos encontram-se descritos na tabela seguinte. Todas as soluções extrativas foram filtradas utilizando papel de filtro (Whatman, Nº 1).

Tabela I. Fatores e procedimentos estudados dos compostos do *T. hispanicum*

Fatores estudados	Procedimento
<u>Solvente</u>	Pesou-se 75 g de pó da planta e macerou-se em água destilada por 24 horas, à temperatura ambiente e no escuro.
- Água destilada	
- Água da torneira	Pesou-se 75 g de pó da planta e macerou-se em água da torneira por 24 horas, à temperatura ambiente e no escuro.
<u>Tamanho Partículas</u>	Pesou-se 75 g da planta grosseiramente contundida em almofariz de ferro e macerou-se em água destilada por 24 horas, à temperatura ambiente e no escuro.
- Grosseiras	
- Pó	Pesou-se 75 g de pó da planta (triturada em moinho) e macerou-se em água destilada por 24 horas, à temperatura ambiente e no escuro.
<u>Técnica Extrativa</u>	Pesou-se 75 g de pó da planta e ferveu-se (100 °C) por 5 minutos (Infusão).
- Infusão*	
- Maceração**	Pesou-se 75 g de pó da planta e macerou-se em água destilada por 24 horas, à temperatura ambiente e no escuro.
- Cozimento***	Pesou-se 75 g de pó da planta. Juntou-se água. Deixar até ferver alguns minutos.
<u>Temperatura</u>	Pesou-se 75 g de pó da planta. Adicionou-se água destilada a 100°C por 5 minutos.
- 100 °C	
- 60 °C	Pesou-se 75 g de pó da planta. Adicionou-se água destilada a 60 °C por 5 min.
<u>Tempo</u>	Pesou-se 75 g de pó da planta. Adicionou-se água destilada a 100°C por 3 min.

- 3 minutos	Pesou-se 75 g de pó da planta. Adicionou-se água destilada a 100°C por 10 min.
- 10 minutos	
- 20 minutos	Pesou-se 75 g de pó da planta. Adicionou-se água destilada a 100°C por 20 min.

*Infusão: A infusão é preparada adicionando água fervente sobre as partes da planta. Devem-se deixar as plantas dentro da água quente por 5-10 minutos e depois filtrar (Leite, 2009).

**Maceração: É um processo que requer longa imersão. Coloca-se a planta em contato com o líquido extrator, agitando o sistema periodicamente (Leite, 2009).

***Cozimento: O cozimento é preparado colocando a planta em contato com água fria, com posterior aquecimento até ebulição em recipiente fechado, deixando ferver por alguns minutos (Leite, 2009).

3.2.4. Determinação da Atividade Antioxidante

A atividade antioxidante da planta *T. hispanicum* foi analisada segundo três métodos distintos, nomeadamente, (1) ensaio do radical DPPH; (2) ensaio do radical superóxido; e (3) ensaio de quelação do ferro (Fe²⁺). Para todos os ensaios calculou-se o valor de IC₅₀.

3.2.4.1. Ensaio do Radical DPPH

O ensaio do radical DPPH foi realizado de acordo com o procedimento Lima et al., (2007), com algumas modificações. No ensaio, a solução de DPPH (90 µM) foi adicionada a um meio contendo diferentes diluições da solução extrativa. A absorvância foi medida a 515 nm, utilizando um leitor de placas, com leituras de cinco em cinco minutos, durante trinta minutos.

A quercetina foi utilizada como controlo positivo. A capacidade de eliminação do radical DPPH foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$\text{Capacidade de eliminação do radical DPPH (\%)} = 100 \times [(AC-AS) / AC]$$

AC = Absorbância do controlo

AS = Absorbância da amostra

3.2.4.2. Ensaio de quelação do Fe^{2+}

O ensaio de quelação do ferro foi realizado segundo o procedimento de Russo et al., (2005) com algumas modificações (Russo et al., 2005). Resumidamente, adicionou-se 50 μ L de cada diluição da solução extrativa a 50 μ L de $FeSO_4$ (0,12 mM) e 50 μ L de ferrozina (0,6 mM). A mistura foi então agitada vigorosamente e deixada à temperatura ambiente e no escuro durante 10 min. A absorvância da solução foi medida a 562 nm.

O EDTA foi usado como controlo positivo. A capacidade do *T. hispanicum* se ligar ao ferro foi calculada através da seguinte fórmula:

$$\text{Atividade quelante (\%)} = 100 \times [(AC-AS) / AC]$$

AC = Absorbância do controlo

AS = Absorvância da amostra.

3.2.4.3. Ensaio do radical superóxido

O ensaio do radical superóxido consistiu num ensaio não enzimático de PMS-NADH, como previamente descrito por Valentão et al., (2001). Resumidamente, em cada poço da placa colocou-se a seguinte mistura NADH (166 μ M), NBT (43 μ M), e a amostra (nas diferentes diluições). Incubou-se a placa durante 3 min a 30 °C em estufa, e adicionou-se PMS (2,7 μ M). A absorvância foi determinada a 560 nm.

O ácido ascórbico foi usado como controlo positivo. A capacidade de remoção de radicais superóxido foi calculada usando a seguinte fórmula:

$$\text{Capacidade de eliminação de radicais superóxido (\%)} = 100 \times [(AC-AS) / AC]$$

AC = Absorbância do controlo

AS = Absorbância da amostra

3.2.5. Análise Estatística

A análise estatística foi feita recorrendo ao programa estatístico GraphPad Prism 7.0 (GraphPad Software, Inc; San Diego, USA). Os dados são apresentados como a média \pm desvio padrão de três repetições de pelo menos três ensaios independentes.

3.3. Resultados

A capacidade antioxidante do *T. hispanicum* e a influência de diferentes fatores nessa mesma atividade foi avaliada através de três métodos comumente: ensaio do DPPH, ensaio do radical superóxido e ensaio de quelação do Fe²⁺. Os resultados relativos aos valores de IC₅₀ para o *T. hispanicum* (Tabela II) e para os controlos positivos (Tabela III) apresentam-se de seguida.

Tabela II. Valores de IC₅₀ (µg/mL) para o *T. hispanicum*.

Fatores Estudados		Ensaio		
		DPPH	Quelação Fe ²⁺	Superóxido
Solvente	Água destilada	449,3 ± 16,7	401,0 ± 12,1	17,20 ± 0,6
	Água Torneira	775,0 ± 13,6	n.d.	84,2 ± 12,7
Tamanho das Partículas	Grosseiras	797,5 ± 17,7	112,4 ± 27,0	n.d.
	Finas (Pó)	449,3 ± 16,7	401,0 ± 12,1	17,20 ± 0,6
Processo Extrativo	Infusão	n.d.	n.d.	n.d.
	Maceração	449,3 ± 16,7	401,0 ± 12,1	17,20 ± 0,6
	Cozimento	794,3 ± 41,6	n.d.	n.d.
Temperatura	60 °C	n.d.	n.d.	4,6 ± 4,6
	100 °C	n.d.	n.d.	n.d.
Tempo Infusão	3 min	n.d.	n.d.	n.d.
	10 min	n.d.	n.d.	n.d.
	20 min	885,8 ± 64,5	748,62 ± 39,0	n.d.

n.d. não determinado. Os valores foram expressos em média ± desvio padrão.

Tabela III. Valores de IC₅₀ dos controlos positivos

Ensaio Antioxidante	Controlo Positivo	Valor de IC ₅₀ (µg/mL)
Ensaio do DPPH	Quercetina	5,2 ± 0,1
Ensaio do Superóxido	Ácido Ascórbico	77,5 ± 10,9
Ensaio de quelação de Fe ²⁺	EDTA	5,4 ± 0,2

Para todos os ensaios realizados e todas as variáveis testadas obteve-se um menor valor de IC₅₀ para o processo extrativo efetuado com a temperatura de 60 °C (planta em pó), seguido do processo extrativo maceração (planta em pó), com o ensaio do superóxido (4,6 ± 4,6 µg/mL e 17,20 ± 0,6 µg/mL, respetivamente). Em ambos os casos, o valor encontrado foi inferior ao valor de IC₅₀ do controlo positivo ácido ascórbico (77,5 ± 10,9 µg/mL).

Analisando os diferentes fatores no processo extrativo, no caso dos solventes utilizados, os valores de IC₅₀ mais baixos foram obtidos com a água destilada, para todos os ensaios realizados. Apenas para o ensaio do superóxido, recorrendo à água destilada como solvente, obteve-se um valor de IC₅₀ inferior ao ácido ascórbico (17,20 ± 0,6 µg/mL face a 77,5 ± 10,9 µg/mL). No caso da extração com água da torneira, e no caso do ensaio de quelação do ferro, as concentrações testadas não foram suficientes para se obter um valor de IC₅₀.

Quanto à análise da influência do tamanho das partículas foi possível observar um menor valor de IC₅₀ para a utilização de planta em pó, no caso dos ensaios de DPPH e superóxido (capacidade *scavenging* de radicais livres). Os valores encontrados foram de 449,3 ± 16,7 µg/mL e 17,20 ± 0,6 µg/mL, respetivamente. No caso do valor encontrado para o DPPH, este foi superior ao controlo positivo, quercetina (5,2 ± 0,1 µg/mL). No caso da extração com a planta grosseiramente contundida, e para o ensaio de quelação do ferro, o valor de IC₅₀ foi inferior ao valor encontrado para a planta em pó (112,4 ± 27,0 µg/mL face a 401,0 ± 12,1 µg/mL).

Relativamente ao processo extrativo (infusão, maceração e cozimento), com a infusão não foi possível obter valores de IC₅₀, tendo-se observado os melhores valores para o processo de maceração (DPPH - 449,3 ± 16,7 µg/mL; quelação do ferro- 401,0 ± 12,1 µg/mL; e superóxido - 17,20 ± 0,6 µg/mL). No caso do cozimento, só se conseguiu obter valores de IC₅₀ com o ensaio do DPPH (794,3 ± 41,6 µg/mL).

No caso do estudo das temperaturas no processo de infusão (60 e 100 °C) apenas foi obtido um valor de IC₅₀ para o ensaio do superóxido, com a temperatura de 60 °C. O valor encontrado 4,6 ± 4,6 µg/mL foi inferior ao controlo positivo (ácido ascórbico - 77,5 ± 10,9 µg/mL).

For fim, analisando o tempo de extração (3, 10 e 20 minutos), só se obteve valores de IC₅₀ para o processo de extração com 20 minutos, para os ensaios do DPPH (885,8 ± 64,5 µg/mL) e ensaio de quelação do ferro (748,62 ± 39,0 µg/mL). Nenhum destes ensaios apresentou valores de IC₅₀ inferiores ao controlo positivo (quercetina - 5,2 ± 0,1 µg/mL e EDTA - 5,4 ± 0,2 µg/mL, respetivamente).

3.4. Discussão

Os fitoquímicos, onde se incluem os compostos fenólicos, presentes nos extratos do género *Taraxacum* (Mir et al., 2013) e em outras plantas, têm recebido muita atenção nos últimos anos devido aos seus benefícios para a saúde, em grande parte devido às suas atividades antioxidantes e anti-inflamatórias. Por esta razão, há interesse na sua utilização como nutracêuticos.

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos, compostos presentes em grande quantidade das espécies do género *Taraxacum*, deve-se essencialmente às suas propriedades redox, que permitem a estes compostos atuarem como agentes redutores, doarem hidrogénio ou decomporem peróxidos (Aliyu et al., 2010). Posto isto, é importante o estudo dos fatores que melhor influenciem o seu processo de extração, de forma a aumentarem a atividade antioxidante (Harbourne et al., 2013).

Neste estudo foram utilizados diferentes ensaios antioxidantes, uma vez que as plantas têm uma grande variedade de metabolitos ativos na sua composição, atuando

estes por diferentes mecanismos de ação. O ensaio do radical DPPH, radical superóxido e ensaio da quelação do ferro foram os selecionados. O valor de IC₅₀ de um composto é inversamente relacionado com a sua capacidade antioxidante, e expressa a quantidade de antioxidante necessário para reduzir a concentração de DPPH em 50%, que é obtido por interpolação da análise da regressão linear. Um valor baixo de IC₅₀ indica uma elevada atividade antioxidante de um composto ou extrato (Liu et al., 2009).

O ensaio do DPPH é amplamente utilizado para avaliação da atividade antioxidante devido à sua sensibilidade na deteção de compostos ativos em concentrações micromolares. No método de DPPH mede-se a captação deste radical através da diminuição da absorvância, medida a 515 nm, que acontece devido à redução de um antioxidante ou por reação com radicais. Na maioria dos casos o método de DPPH é utilizado para medir a captação de radicais após 30 minutos depois de iniciada a reação. Pode ser expresso em valor IC₅₀, ou seja, a concentração de antioxidante necessária para captar 50% dos radicais de DPPH num período temporal determinado (Colle et al., 2012; Hu e Kitts, 2004; Hu e Kitts, 2005; Pandey et al.; 2011). O método do DPPH tem várias vantagens face a outros métodos, tais como a sua estabilidade, sensibilidade, credibilidade, simples realização e viabilidade (Sousa et al., 2007).

Os alimentos são geralmente contaminados com iões metálicos de transição que podem ser introduzidos pelos métodos de processamento. Os iões metálicos de transição bivalentes têm um importante papel como catalisadores dos processos oxidativos, levando à formação de radicais hidroxilo e hidroperóxidos (Halliwell et al., 1992). O ensaio de quelação do ferro (Fe²⁺) constitui um método simples para avaliar o potencial de uma amostra/extrato de reduzir a peroxidação lipídica ou a formação de radicais livres, produtos das reações de Fenton e de Haber-Weiss. Neste método, o reagente ferrozina produz um complexo violeta com o Fe²⁺, cuja absorvância pode ser medida a 562 nm. Na presença de um agente quelante, a formação do complexo é interrompida e como resultado, a cor violeta do complexo diminui (Min et al., 2011). Neste trabalho os valores encontrados no ensaio de quelação do ferro não conseguiram ser determinados ou deram, no geral, valores mais elevados de IC₅₀, sugerindo que os extratos podem ter atividade antioxidante por outros mecanismos de ação.

Os radicais superóxido gerados pelo oxigênio dissolvido pelo conjunto PMS-NADH pode ser medido pela sua capacidade de reduzir o NBT. A redução da absorvância a 562 nm com os extratos vegetais e os compostos de referência (ácido ascórbico) indicam as suas capacidades para sequestrar os radicais superóxido na reação (Hazra et al., 2008). A capacidade de redução do anião superóxido depende da quantidade de compostos fenólicos presentes no extrato, sendo os flavonóides os mais ativos. Os flavonóides têm sido descritos como compostos ativos antioxidantes, atuando tanto na prevenção como no tratamento de doenças (Mingarro et al., 2015). No seu estudo, Robak e Glyglewski (1988) demonstraram que os flavonóides funcionam como antioxidantes efetivos, principalmente porque sequestram aniões superóxido (Robak e Gryglewski, 1988).

Existem muitas variáveis que influenciam os processos e rendimentos das extrações com plantas. Entre as mais importantes podem citar-se o estado de divisão da planta, a natureza do solvente, a temperatura, o método e tempo de extração, o pH e a agitação (Leite, 2009).

Relativamente aos solventes, são vários os que podem ser utilizados nos processos extrativos, sendo as misturas de água e etanol os mais utilizados. Estes solventes extraem a grande maioria das classes de metabolitos secundários (flavonóides, taninos, terpenos e alcalóides) (Leite, 2009). A água é bastante utilizada como solvente extrator, pois apresenta diversas características, como a baixa toxicidade. Além disso, é o solvente utilizado no processo de infusão, apresentando vantagens relacionadas com aspetos económicos e ambientais. Extratos aquosos já demonstraram alta seletividade, comportamento justificado pela polaridade, hidrofobicidade e capacidade de formação de micelas (Silva et al., 2009).

A eficiência da extração de algumas plantas parece depender da presença de eletrólitos. A água da torneira contém uma maior concentração de catiões que a água destilada. Segundo Mossion et al., (2008) quanto maior a mineralização, menor o rendimento da extração das folhas de chá-verde. A justificação é que o cálcio é absorvido pelas folhas de águas muito mineralizadas, formando um complexo com as pectinas da parede celular. A formação deste complexo vai retardar o processo extrativo, o que explica o baixo rendimento da extração de compostos ativos (Mossion et al., 2008). Além disso, os polifenóis podem combinar-se com iões cálcio (Ca^{2+}) e magnésio (Mg^{2+}) de

forma a serem parcialmente retidos no resíduo do chá (Danrong et al., 2009). Os resultados destes autores podem ajudar a explicar os melhores valores de IC_{50} encontrados no trabalho, para a extração do *T. hispanicum* com água destilada. A água destilada é mais pura que a água da torneira, não apresentando minerais nem impurezas. Estes minerais e impurezas alteram a capacidade de extração dos compostos ativos do *T. hispanicum*. Como tal, a utilização de água destilada pode ser uma boa alternativa no processamento de alguns alimentos e em particular no processo extrativo do dente-de-leão.

No caso do estado de divisão da droga vegetal, a escolha do tipo de moagem e o material a ser moído são parâmetros que devem ser considerados para se conseguir obter eficiência no processo extrativo. De um modo geral, quanto mais pequeno o tamanho das partículas, melhor o processo extrativo. A eficiência de extração é aumentada com o tamanho reduzido das partículas face à melhoria de penetração dos solventes e difusão dos solutos (Zhang et al., 2018). No entanto, pós muito finos podem dificultar alguns processos como a lixiviação e a maceração, enquanto fragmentos maiores podem dificultar a penetração dos solventes tornando o processo mais lento (Leite, 2009).

Relativamente ao extrato contundido grosseiramente e em pó fino, o IC_{50} foi mais baixo no extrato em pó. A redução do tamanho das partículas aumenta o contato da superfície entre as amostras e os solventes de extração. Pinelo et al (2005), concluíram, após o estudo do efeito de diferentes tamanhos de partículas numa extração contínua de compostos fenólicos, que uma quantidade maior de polifenóis totais é obtida com uma menor quantidade de amostra e tamanho de partículas. Neste caso, a única variável em estudo foi o tamanho da partícula mantendo-se a quantidade de extrato, assim, partículas mais pequenas aumentaram a capacidade antioxidante do extrato (Pinelo et al., 2005).

Uma técnica extrativa permite a obtenção de extratos com elevado rendimento e mínimas alterações nas propriedades funcionais do extrato analisado (Quispe Candori et al., 2008). Diferentes estudos têm demonstrado variações nas atividades biológicas de extratos preparados através de diferentes técnicas extrativas. Como tal, é necessário selecionar o método extrativo mais adequado, assim como o solvente, com base das propriedades da nossa matriz vegetal (Hayouni et al., 2007, Ishida et al., 2001). Técnicas

tradicionais de preparar soluções extrativas de planta incluem a infusão, cozimento e a maceração à temperatura ambiente resultando em diferentes composições de constituintes extraídos, que por sua vez pode influenciar o modo de ação e o perfil de segurança. Contudo, ainda são limitados os estudos relativos a este tópico (Jäger et al., 2011).

Relativamente ao processo extrativo (infusão, maceração e cozimento), os melhores valores de IC₅₀ foram observados para o processo de maceração (DPPH - 449,3 ± 16,7 µg/mL; quelação do ferro- 401,0 ± 12,1 µg/mL; e superóxido - 17,20 ± 0,6 µg/mL). Apesar da infusão e do cozimento serem técnicas clássicas de extração por solventes para a obtenção de metabolitos ativos das plantas, alguns dos compostos sensíveis ao calor podem ser decompostos por estas técnicas. Alguns estudos têm demonstrado melhores resultados com outras técnicas extrativas, comparativamente com a maceração. Por exemplo, Jovanović et al. (2017) avaliaram a eficiência de extração dos polifenóis de *Thymus serpyllum* recorrendo a diferentes técnicas extrativas (maceração, extração com elevadas temperaturas e ultrassons). Com base no teor de polifenóis totais, a extração por ultrassons produziu o rendimento mais elevado em termos de flavonóides, não se verificando diferenças estatisticamente significativas entre a maceração e a extração com calor (Jovanović et al., 2017). No entanto, as técnicas a utilizar dependem muito da planta e dos constituintes ativos presentes. Por exemplo, num outro estudo a eficiência de extração de flavonóides totais foi menor no extrato obtido com o método de maceração (Jin et al, 2011).

Quanto à influência da temperatura, as infusões foram feitas com água a 60 e 100 °C. Muitos autores concordam com o facto de que um aumento na temperatura favorece a extração aumentando tanto a solubilidade do soluto quanto o coeficiente de difusão, mas também que certos compostos fenólicos importantes podem ser desnaturados (Pinelo et al., 2005; Spigno e De Faveri, 2007; Yilmaz e Toledo, 2006). Spigno e De Faveri (2007) concluíram que o melhor rendimento de compostos fenólicos foi encontrado com a temperatura de 60 °C (Spigno e De Faveri, 2007). Também no seu estudo, Dent et al., (2013) confirmaram que as soluções aquosas de etanol ou acetona (30%), temperaturas de 60°C e tempo de extração de 30 minutos foram os parâmetros mais eficientes para a extração de polifenóis de folhas secas de salva (Dent et al., 2013).

No trabalho apenas foi possível determinar um valor de IC₅₀ para o ensaio do superóxido, com a temperatura de 60 °C. O valor encontrado de 4,6 ± 4,6 µg/mL foi inferior ao controlo positivo (ácido ascórbico - 77,5 ± 10,9 µg/mL), denotando uma potente atividade antioxidante à temperatura mais baixa. Amostras com valores de IC₅₀ < 10 µg/mL são considerados muito ativos quanto à sua atividade antioxidante, comparável à atividade dos controlos positivos (Yang et al., 2007). Temperaturas muito elevadas podem levar a perdas de solventes, levando ao aparecimento de impurezas nos extratos e à decomposição de compostos termolábeis (Zhang et al., 2018).

O tempo durante o qual o solvente de extração e a matriz estão em contato pode influenciar a libertação progressiva de soluto da matriz para o solvente, e desta forma, a eficiência do processo extrativo (Michiels et al., 2012). No presente trabalho avaliou-se o efeito de diferentes tempos de extração (3, 10 e 20 minutos) na atividade antioxidante do *T. hispanicum*, no caso de recorrermos a uma infusão como processo extrativo. No estudo só se observaram valores de IC₅₀ para o processo de extração com vinte minutos, para os ensaios do DPPH (885,8 ± 64,5 µg/mL) e ensaio de quelação do ferro (748,62 ± 39,0 µg/mL). Estes resultados parecem discordar com os observados por Lapornik et al., (2005) em que no caso dos extratos aquosos preparados a partir de groselha e uva, o teor de compostos fenólicos diminuiu com o tempo, ao contrário dos extratos metanólicos/etanólicos cujos conteúdos aumentaram com o tempo. No entanto, é de salientar que os tempos analisados por Lapornik et al., (2005) foram de uma, doze e vinte e quatro horas. Por sua vez, Balci e Özdemir (2016) demonstraram que o teor mais elevado de compostos fenólicos totais e de flavonóides, assim como os valores mais elevados de capacidade antioxidante foram obtidos com a extração a 95 °C por 20 minutos (Balci e Özdemir, 2016).

3.5. Conclusão

A atividade antioxidante do dente-de-leão (*T. hispanicum*) foi avaliada recorrendo a diferentes ensaios, nomeadamente, ao ensaio do radical DPPH, radical superóxido e ensaio de quelação do ferro. Os resultados sugerem que o tipo de solvente, o tamanho das partículas, o método extrativo, o tempo e a temperatura de extração podem influenciar a capacidade antioxidante dos extratos vegetais, uma vez que afetam

os compostos ativos extraídos. Os resultados podem variar de acordo com a matriz vegetal utilizada. Os resultados do estudo sugerem que a utilização de água destilada, tamanhos reduzidos das partículas, temperaturas mais baixas e tempos mais prolongados de extração (20 minutos) parecem ser bons fatores para os processos extrativos do dente-de-leão, afetando a sua atividade antioxidante. No entanto, sugere-se a realização de outros ensaios antioxidantes (ex.: ensaio do FRAP, CUPRAC ou ABTS) assim como, a determinação do teor de compostos fenólicos, de forma a poder relacioná-los com a atividade antioxidante.

3.6. Referências

Aliyu, A. B., Ibrahim, H., Musa, A. M., Ibrahim, M. A., Oyewale, A. O., e Amupitan, J. O. (2010). In vitro evaluation of antioxidant activity of *Anisopus mannii* N . E . Br . *Afr J Biotechnol*, 9(16), 2437–2441.

Andreo, D., e Jorge, N. (2006). Antioxidantes Naturais: Técnicas de Extração. *Boletim Do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 24(2).
<https://doi.org/10.5380/cep.v24i2.7489>

Balci, F., e Özdemir, F. (2016). Influence of shooting period and extraction conditions on bioactive compounds in Turkish green tea. *Food Science & Nutrition*, 36(June), 737–743.

Colle, D., Arantes, L. P., Gubert, P., da Luz, S. C. A., Athayde, M. L., Teixeira Rocha, J. B., e Soares, F. A. A. (2012). Antioxidant Properties of *Taraxacum officinale* Leaf Extract Are Involved in the Protective Effect Against Hepatotoxicity Induced by Acetaminophen in Mice. *Journal of Medicinal Food*, 15(6), 549–556. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0282>

Danrong, Z., Yuqiong, C., e Dejiang, N. (2009). Effect of water quality on the nutritional components and antioxidant activity of green tea extracts. *Food Chemistry*, 113(1), 110–114.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.033>

Dent, M., Dragovi, V., Peni, M., e Brn, M. (2013). The Effect of Extraction Solvents, Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols in Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts, 9862(1), 84–91.

Dubost, N. J., Ou, B., e Beelman, R. B. (2007). Quantification of polyphenols and ergothioneine in cultivated mushrooms and correlation to total antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 105(2), 727–735. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.030>

González-Castejón, M., Visioli, F., e Rodriguez-Casado, A. (2012). Diverse biological activities of dandelion. *Nutrition Reviews*, 70(9), 534–547. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2012.00509.x>

Hagymási, K., Blázovics, A., Fehér, J., Lugasi, A., Kristó, S.T. e Kéry, T. (2000) The in vitro effect of dandelion antioxidants on microsomal lipid peroxidation. *Phytotherapy Research*, 14(1):43-44. doi:10.1002/(SICI)1099-1573(200002)14:13.3.CO;2- H

Halliwell, B., Gutteridge, J.M. e Cross, C.E., (1992) Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? *J. Lab. Clin. Med.* 119, 598–620

Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical methods : a guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman and Hall.

Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M., e Hamdi, M. (2007). Food Chemistry The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian Quercus, 105, 1126–1134. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.010>

Hazra, B., Biswas, S., e Mandal, N. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BMC Complement Altern Med.*, 10, 1–10. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-8-63>

Hu, C., e Kitts, D. D. (2004). Luteolin and luteolin-7-O-glucoside from dandelion flower suppress iNOS and COX-2 in RAW264.7 cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 265(1–2), 107–113. <https://doi.org/10.1023/B:MCBI.0000044364.73144.fe>

Hu, C., e Kitts, D. D. (2005). Dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extract suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide and prevents lipid oxidation in vitro. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 12(8), 588–597. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2003.12.012>

Ishida, B. K., Ma, J., e Chan, B. (2001). A Simple , Rapid Method for HPLC Analysis of Lycopene Isomers. *Phytochemical Analysis*, 198(November 1999), 194–198.

Jager, S. J., Effert, M. B., Oppe, K. H., Adberezny, D. N., Rank, B. F., e Cheffler, A. S. (2011). Preparation of Herbal Tea as Infusion or by Maceration at Room Temperature Using Mistletoe Tea as an Example. *Scientia Pharmaceutica*, 79, 145–155. <https://doi.org/10.3797/scipharm.1006-06>

Jin, S., Yang, M., Kong, Y., Yao, X., Wei, Z., Zu, Y., e Fu, Y. (2011) Microwave-assisted extraction of flavonoids from *Cajanus cajan* leaves. *Zhongcaoyao*. 42(11):2235–2239

Jovanic, A. A., Đorđević, V. B., Zdunic, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Godevac, D. M., e Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369–380. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055>

Laranjeira, C., Nogueira, A., Almeida, R., Oliveira, R., Oliveria, A., Pinho, C., e Cruz, A. (2017). Antioxidant Activity and Cytotoxicity of *Taraxacum hispanicum* Aqueous and Ethanollic Extracts on HepG2 Cells. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(1), 5–12. <https://doi.org/10.25258/ijpapr.v9i1.8032>

Lapornik, B., Wondra, A. G., e Pros, M. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of Food Engineering*, 71, 214–222. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036>

Leite, J. P. V. (2009) *Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas*. São Paulo: Atheneu.

Li, H., Wang, X., Li, Y., Li, P., e Wang, H. (2009). Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. *Food Chemistry*, 112(2), 454–460. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.111>

Lima, C. F., Valentao, P. C. R., Andrade, P. B., Seabra, R. M., Fernandes-Ferreira, M., e Pereira-Wilson, C. (2007). Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 167(2), 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.01.020>

Liu, S., Lin, J., Wang, C., Chen, H., e Yang, D. (2009). Antioxidant properties of various solvent extracts from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. *Food Chemistry*, 114(2), 577–581. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.088>

Matés, J. M., e Sánchez-Jiménez, F. M. (2000). Role of reactive oxygen species in apoptosis implications.pdf, 32. [https://doi.org/10.1016/S1357-2725\(99\)00088-6](https://doi.org/10.1016/S1357-2725(99)00088-6)

Michiels, J. A., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O., e Dommes, J. (2012). Extraction conditions can greatly influence antioxidant capacity assays in plant food matrices. *Food Chemistry*, 130(4), 986–993. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.117>

Min, B., McClung, A. M., e Chen, M. (2011). Phytochemicals and Antioxidant Capacities in Rice Brans of Different Color, 76(1), 117–126. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01929.x>

- Mingarro, D. M., Plaza, A., Galán, A., Vicente, J. A., Martínez, M. P., e Acero, N. (2015). The effect of five *Taraxacum* species on in vitro and in vivo antioxidant and antiproliferative activity. *Food and Function*, 6(8), 2787–2793. <https://doi.org/10.1039/c5fo00645g>
- Mir, A., Sawhney, S., e Jassal, M. (2013). Qualitative and quantitative analysis of phytochemicals of *Taraxacum officinale*. *Wudpecker Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(1), 1–5.
- Mossion, A., Potin-Gautier, M., Delerue, S., Hécho, I. Le, e Behra, P. (2008). Effect of water composition on aluminium, calcium and organic carbon extraction in tea infusions. *Food Chemistry*, 106(4), 1467–1475. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.098>
- Oldoni, T. L. C., Oliveira, S. C., Andolfatto, S., Karling, M., Calegari, M. A., Sado, R. Y., ... Lima, V. A. (2015). Chemical characterization and optimization of the extraction process of bioactive compounds from propolis produced by selected bees *Apis mellifera*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26(10), 2054–2062. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20150186>
- Organización Mundial de la Salud. Traditional, Complementary and Alternative Medicines and Therapies. Washington DC, Oficina Regional de la OMS para las Américas/Organización Panamericana de la Salud (grupo de trabajo OPS/OMS), 1999
- Pandey, S., Chatterjee, S. J., Ovadje, P., Mousa, M., e Hamm, C. (2011). The efficacy of dandelion root extract in inducing apoptosis in drug-resistant human melanoma cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2011/129045>
- Pellegrini, N., Colombi, B., Salvatore, S., Brenna, O.V., Galaverna, G., Del Rio, D., Bianchi, M., Bennett, R., e Brighenti, F. (2007). Evaluation of antioxidant capacity of some fruit and vegetable foods: efficiency of extraction of a sequence of solvents. *J. Sci. Food Agric.* 87, 103–111.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J., e Núñez, M. J. (2005). Effect of solvent, temperature, and solvent-to-solid ratio on the total phenolic content and antiradical activity of extracts from different components of grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2111–2117. <https://doi.org/10.1021/jf0488110>
- Quispe-Condiori, S., Foglio, M. A., Rosa, P. T. V., e Meireles, M. A. A. (2008). Obtaining β -caryophyllene from *Cordia verbenacea* de Candolle by supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 46, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2008.02.015>

Rababah, T.M., Banat, F., Rababah, A., Ereifej, K., e Yang, W. (2010). Optimization of extraction conditions of total phenolics, antioxidante activities, and anthocyanin of oregano, thyme, terebinth, and pomegranate. *J. Food Sci.* 75 (7), C626–C632.

Robak, J. e Gryglewski, I. R. (1988). Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol*, 37:837–841.

Russo, A., Cardile, V., Lombardo, L., Vanella, L., Vanella, A., e Garbarino, J. A. (2005). Antioxidant activity and antiproliferative action of methanolic extract of Geum quellyon Sweet roots in human tumor cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(3), 323–332.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.03.032>

Silva, C. A., Bioquímica, D. De, Química, I. De, Paulo, U. D. S., Paulo, S., Departamento, S. P., ... Sp, D. (2009). Fontes Vegetais Naturais De Antioxidantes. *Quim. Nova*, 32(3), 689–702.

Sousa, C. M. D. M., Silva, H. R. E., Vieira, G. M., Ayres, M. C. C., Da Costa, C. L. S., Araújo, D. S., ... Chaves, M. H. (2007). Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Química Nova*, 30(2), 351–355. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200021>

Spigno, G., e De Faveri, D. M. (2007). Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 793–801. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.020>

Valentão, P., Fernandas, E., Carvalho, F., Andrade, P. B., Seabra, R. M., e Bastos, M. L. (2001). Antioxidant activity of Centaurium erythraea infusion evidenced by its superoxide radical scavenging and xanthine oxidase inhibitory activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3476–3479. <https://doi.org/10.1021/jf001145s>

Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y., e Gritsanapan, W. (2013). Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of Moringa oleifera leaf extract by the appropriate extraction method. *Industrial Crops and Products*, 44, 566–571. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.09.021>

Yang, D. M., Wang, M. Q., Be, L. K., Be, J. J., e PhD, T. Y. (2007). Antioxidant activities of various extracts of lotus (*Nelumbo nucifera Gaertn*) rhizome. *Asia Pac J Clin Nutr*, 16(Suppl 1), 158–163.

Yilmaz, Y., e Toledo, R. T. (2006). Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols.

Journal of Food Composition and Analysis, 19(1), 41–48.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2004.10.009>

Zhang, Q. W., Lin, L. G., e Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products : a comprehensive review. *Chinese Medicine*, 1–26.

<https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

CONCLUSÃO

Os danos associados ao stress oxidativo acompanham a iniciação e progressão de muitas doenças, nomeadamente, de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e cancro. Muitos produtos alimentares têm demonstrado atividade antioxidante, uma vez que contêm na sua composição compostos antioxidantes, como os flavonóides e ácidos fenólicos.

As espécies do género *Taraxacum*, conhecidas popularmente por dente-de-leão, e onde se insere o *T. hispanicum*, são ricas em compostos fenólicos, terpenos, hidratos de carbono, proteínas, vitaminas e minerais. O dente-de-leão é também utilizado tradicionalmente como alimento, possuindo baixa toxicidade. As folhas da planta continuam a ser utilizadas atualmente em Fitoterapia em várias preparações incluindo infusões, extratos etanólicos, ou sob a forma de suco (proveniente do processo de expressão das folhas).

Alguns estudos fitoquímicos existentes relativos às partes aéreas de espécies do género *Taraxacum*, evidenciam a sua riqueza em compostos fenólicos, onde os mais abundantes são os derivados do ácido hidroxicinâmico e os glicósidos de flavonóides.

A planta e os seus extratos parecem ter uma ação *scavenging* sobre os radicais livres e redução do dano oxidativo. As propriedades antioxidantes dos flavonóides manifestam-se em particular pela sua capacidade de inibir a produção de radicais livres, atividade *scavenging* de radicais livres e quelação de iões metálicos de transição. Os compostos fenólicos também parecem prevenir a produção de radicais livres, inibindo a atividade de enzimas que participam na produção dessas mesmas substâncias, ou por aumento de enzimas que têm uma atividade antioxidante. Como tal, é importante o desenvolvimento e otimização de métodos de rotina para a obtenção soluções extrativas de elevado rendimento e baixo custo.

Muitos fatores, como a composição do solvente, a técnica extrativa, o tempo de extração, a temperatura, o pH, a razão sólido-líquido e o tamanho das partículas podem influenciar o processo extrativo nas plantas. Com o tal, existe cada vez mais um interesse crescente pelo desenvolvimento e otimização de métodos extrativos eficientes e com preocupação pelo ambiente. As características de um processo extrativo preocupado com o ambiente incluem, um baixo consumo de solvente, um curto tempo de extração

e um elevado rendimento. Hoje em dia, as técnicas extrativas são cada vez mais voltadas para os solventes sem toxicidade. Além disso, os compostos fenólicos são suscetíveis de serem alterados por elevadas temperaturas e um ambiente alcalino.

O estudo fitoquímico realizado nos extratos aquosos e hidroalcoólicos das folhas de *T. hispanicum* permitiu detetar a presença de polifenóis, flavonóides, taninos, terpenóides e diterpenos. Composição esta, semelhante à encontrada noutras espécies de plantas do género *Taraxacum*, à exceção da presença dos diterpenos, taninos e alcaloides.

Esta composição, nomeadamente em compostos fenólicos, sustenta a atividade antioxidante demonstrada pelos extratos aquosos analisados. Neste caso, a extração destes componentes utilizando água destilada, tamanhos reduzidos das partículas, temperaturas baixas e tempos mais prolongados de extração são variáveis a ter em consideração na otimização do processo extrativo da planta em estudo.

Face aos resultados encontrados, e tendo em conta que um nutracêutico é definido, de modo geral, como um alimento ou parte de um alimento que tenha um efeito benéfico para a saúde podemos concluir que, os extratos das folhas do *T. hispanicum* poderão apresentar-se como um potencial nutracêutico a ser utilizado.

Limitações do Estudo

No trabalho de determinação do perfil fitoquímico de extratos aquosos e hidroalcoólicos de folhas do *T. hispanicum* apenas foi feito um estudo qualitativo. Como tal, e de forma a complementar os resultados obtidos poderia ter sido feita uma análise mais detalhada dos compostos presentes nos extratos analisados, por exemplo através de um HPLC. Por sua vez, foi feita apenas a determinação do teor de compostos fenólicos totais.

No caso do trabalho sobre o estudo do efeito dos solventes, tamanho das partículas, técnicas extrativas, temperaturas e tempos de extração, poderiam ter-se testado outras variáveis. No caso do tamanho das partículas, não houve tamisação dos pós, o

que poderia ter sido mais interessante o estudo de diferentes diâmetros para comparação com a literatura.

Uma outra limitação sentida ao longo da realização do trabalho, foi a escassez de estudos semelhantes com espécies do género *Taraxacum*, de forma a poder comparar resultados, e mais ainda com a espécie estudada, o *T. hispanicum* (onde os artigos são praticamente inexistentes).

Perspetivas Futuras

Para estudos futuros, e uma vez que o trabalho foi realizado com uma espécie de dente-de-leão característica da Península Ibérica e pouco estudada, seria interessante a separação, identificação e quantificação dos constituintes da planta (tanto da parte aérea como da parte radicular, que também é utilizada em medicina e na alimentação). Como tal, a caracterização da planta/compostos recorrendo a um HPLC/MS seria um estudo a desenvolver.

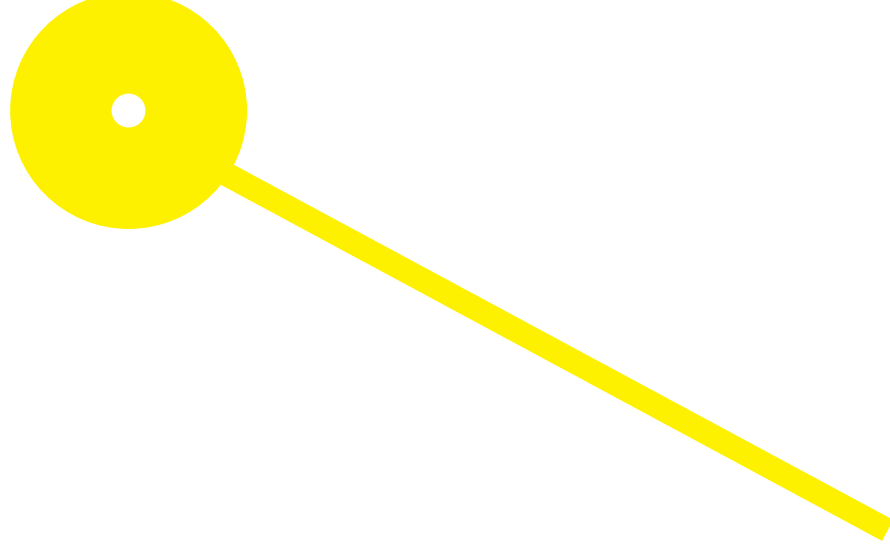
Uma vez que a planta é rica em compostos fenólicos e estes parecem estar associados à atividade antioxidante da planta, seria interessante complementar a determinação do teor de compostos fenólicos (já realizada) com a determinação dos flavonóides totais. Isto, para se poder relacionar o teor destes compostos com a atividade antioxidante da planta.

Além disso, para além dos ensaios antioxidantes realizados, outros poderiam ser feitos com o objetivo de complementar os resultados obtidos, e tendo em conta que as plantas (e em particular os compostos fenólicos) parecem atuar por diferentes mecanismos de ação. Outros ensaios a efetuar poderiam incluir mais ensaios de scavenging de radicais (óxido nítrico, hidroxilo, peróxido de hidrogénio, ABTS), o ensaio do fosfomolibdato (ensaio da capacidade antioxidante total), e a determinação do poder redutor.

No caso do trabalho sobre o estudo do efeito dos solventes, tamanho das partículas, técnicas extrativas, temperaturas e tempos de extração, poderiam ter-se testado outras variáveis. Por exemplo, no caso da maceração, esta poderia ter sido feita às 12 e 24 horas; no caso do tamanho das partículas, poderiam ter-se testado diferentes diâmetros das partículas.

ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE
POLITÉCNICO
DO PORTO

P.PORTO



M

MESTRADO

FARMÁCIA: Especialização em Farmacoterapia
e Farmacoepidemiologia

Potencial Aplicação Nutracéutica do
Dente-de-leão
(*Taraxacum hispanicum*)
Cátia Laranjeira

