



# III CIBAP Azores 2013

III Congresso Iberoamericano de Peloides  
III Congreso Iberoamericano de Peloides  
3rd Iberoamerican Congress of Peloids

Ponta Delgada, São Miguel, Açores  
1-7.10.2013

## LIVRO DE ACTAS LIBRO DE ACTAS PROCEEDINGS



João Carlos Nunes, João Baptista Silva, Celso Figueiredo Gomes  
(editores)





III Congresso Iberoamericano de Peloides  
III Congreso Iberoamericano de Peloides  
3rd Iberoamerican Congress of Peloids

Ponta Delgada, São Miguel, Açores  
1-7.10.2013

# LIVRO DE ACTAS LIBRO DE ACTAS PROCEEDINGS



João Carlos Nunes, João Baptista Silva, Celso Figueiredo Gomes  
(editores)

## Valorização da flor do dragoeiro (*Dracaena draco* L.) dos Açores: caracterização de compostos bioativos de extratos aquosos, etanólicos e hidroalcoólicos

Ana F. Vinha<sup>1</sup>, Sérgio V. P. Barreira<sup>2</sup>, Anabela Costa<sup>3</sup>,  
José das Neves<sup>4</sup>, Rita C. Alves<sup>5</sup> & M. Beatriz P. P. Oliveira<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Engenheira Alimentar (PhD), REQUIMTE/ Dep. Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal; FCS, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, 296, 4200-150, Porto, Portugal, acvinha@ufp.edu.pt

<sup>2</sup> Engenheiro Químico (PhD), FCS, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, 296, 4200-150, Porto, Portugal, barreira@ufp.edu.pt

<sup>3</sup> Engenheira Química (MSc), REQUIMTE/ Dep. Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal, acosta@ff.up.pt

<sup>4</sup> Biologia (PhD), FCS, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, 296, 4200-150, Porto, Portugal, jneves@ufp.edu.pt

<sup>5</sup> Farmacêutica (PhD), REQUIMTE/ Dep. Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal/ Instituto Superior de Engenharia do Porto, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 431, 4200-072 Porto Portugal, rita.c.alves@gmail.com

<sup>6</sup> Farmacêutica (PhD), Prof. Associada, REQUIMTE/ Dep. Ciências Químicas, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal, beatoliv@ff.up.pt

### RESUMO

O Dragoeiro (*Dracaena draco* L.) é uma espécie da família das Dracaenaceae, pertencente à flora da Macaronésia, onde se incluem os arquipélagos da Madeira e dos Açores. Trata-se de uma espécie vulnerável devido à exploração e comércio excessivo da sua resina. É utilizada na medicina tradicional e apresenta atividade citotóxica e efeitos quimioprotetores. No presente estudo analisou-se a atividade antioxidante de vários extratos (etanólico, aquoso e hidroalcoólico) das flores secas do dragoeiro e quantificaram-se os teores totais de fenóis e flavonoides. Os extratos hidroalcoólicos mostraram uma relação positiva e superior entre os teores de compostos fenólicos totais e a sua atividade antioxidante.

A incorporação deste tipo de extratos em peloides para dermocosmética poderá ser benéfica dada a sua atividade antioxidante.

### Palavras Chave

*Dracaena draco* L., Flores secas, Perfil fitoquímico, Atividade antioxidante.

### ABSTRACT

The dragon tree (*Dracaena draco* L.), from the Dracaenaceae family, belongs to the flora of Macaronesia, which includes both Madeira and Azores archipelagos. This species is considered vulnerable due to excessive exploitation and trade of its resin. It is usually used in traditional medicine, and presents cytotoxic and chemoprotective effects. In the present study, the antioxidant activities of several extracts (aqueous, hydroalcoholic and ethanolic) obtained from dried flowers from dragon tree were analyzed. Total phenolics and flavonoids contents were also quantified. Hydroalcoholic extracts showed a superior and positive relation with total phenolics and the antioxidant activity.

The incorporation of these kind of natural extracts in peloids can be beneficial to create new products with high antioxidant activity for skincare cosmetics.

### Keywords

*Dracaena draco* L., Dry Flowers, Phytochemical Profile, Antioxidant activity.

## INTRODUÇÃO

A Macaronésia engloba um pequeno grupo de ilhas no Atlântico e uma extensa faixa costeira do Noroeste de África, de Marrocos ao Senegal. Esta região possui uma biogeografia única, onde a maioria dos seres vivos endémicos estão em risco de extinção ou extintos (Ferreira et al., 2006). O caso do dragoeiro (*Dracaena draco* L.) é paradigmático a este respeito. Trata-se de uma planta da classe Liliopsida, ordem Asparagales, família das Ruscaceae (*Dracaenaceae*) que pode atingir centenas de anos de idade, produzindo árvores de grandes dimensões e que só existe em estado selvagem na Macaronésia. O seu estado de conservação é classificado como vulnerável (Rodríguez-Sánchez et al., 2009). Na medicina popular, a sua seiva conhecida por “sangue do dragão”, é apregoada como depurativo e cicatrizante, fortalecedora do sistema imunitário, com poder revigorante físico e até sexual (Darias et al., 1989). Certamente fruto da sua utilização tradicional milenar, a seiva do dragoeiro mereceu a atenção dos investigadores com vista à sua caracterização química. Assim, em 1920, Dietrich estudou este material e concluiu que a sua composição incluía pigmentos vermelhos e resinas. Por seu lado, Piozzi e colaboradores (1974) identificaram os principais ácidos diterpénicos existentes na seiva: pimárico, isopimárico e dehidroabiético.

## ENQUADRAMENTO

Vários estudos têm demonstrado que as diversas partes morfológicas do *D. draco* são ricas em saponinas esteroídicas com ação citostática e/ou citotóxica (González et al., 2003, Gupta et al., 2008, Hernández et al., 2006). Gonzalez e colaboradores (2000) isolaram três novos compostos fenólicos da seiva de *D. draco*, além de 18 compostos já conhecidos. Santos e colaboradores (2011) concluíram que os compostos voláteis, fenólicos e ácidos orgânicos presentes nos extratos aquosos das folhas de *D. draco* lhe conferiam atividade antioxidante significativa em membranas biológicas. Os seus frutos foram também estudados por estes investigadores. A caracterização dos voláteis dos seus frutos permitiu identificar compostos pertencentes a diversas classes químicas, sendo os aldeídos a classe mais abundante (59% do total de compostos voláteis identificados). Em termos de compostos fenólicos, foram identificados: ác. 5-*O*-cafeoilquínico, ác. 3,5-*O*-dicafeoilquínico, ác. ferúlico, ác. sinápico e quercetina-3-*O*-rutinósido (composto maioritário) (Silva et al., 2011). Estes resultados levaram os investigadores a concluir que o fruto do *D. draco* é um novo e promissor agente antioxidante. Tradicionalmente, as flores do dragoeiro são usadas na preparação de infusões com fins terapêuticos. Neste trabalho caracterizou-se a flor da planta no que respeita ao seu conteúdo em antioxidantes e capacidade antioxidante, com vista a avaliar o potencial de aplicação dos extratos preparados em peloides para cosmética.

## METODOLOGIA

As flores do dragoeiro utilizadas neste trabalho foram colhidas em 2012 em espécimes existentes na Ilha do Pico. As flores foram submetidas a um processo de secagem, à temperatura ambiente, durante uma semana. A partir das flores secas prepararam-se extratos com três solventes (água, água/etanol (50:50) e etanol). Para tal, trituraram-se ~5 g de amostra que foram extraídas com 50 ml de solvente, a 40°C, durante 1 hora, com agitação constante.

### Quantificação dos fenólicos totais

A determinação do teor de fenóis totais foi feita por espectrofotometria, utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (RFC), segundo metodologia previamente descrita (Alves et al., 2010). Foram adicionados a 500 µl de extrato, 2,5 ml de RFC diluído em água desionizada (1:10). Posteriormente adicionaram-se 2 ml de carbonato de sódio (7,5%) para alcalinizar a solução e manteve-se em banho-maria, a 45°C, durante 15 minutos, ao abrigo da luz. Seguidamente, leram-se as absorvências a 765 nm. Utilizou-se o ácido gálico como padrão.

### Quantificação dos flavonoides totais

Os flavonoides totais foram determinados por um método espectrofotométrico, seguindo uma metodologia previamente descrita (Barroso et al., 2011) com ligeiras modificações. A 1 ml de extrato juntaram-se 4 ml de água destilada e 300 µl de nitrito de sódio (5%). Após 5 minutos de reação, foram adicionados 300 µl de  $AlCl_3$  (10%). Posteriormente, adicionaram-se 2 ml de solução de hidróxido de sódio 1 M e 2,4 ml de água destilada. A absorvência foi determinada a 510 nm e a quantificação foi efetuada utilizando epicatequina como padrão.

### Determinação da atividade antioxidante

A capacidade antioxidante dos extratos da flor do drageiro foi determinada segundo dois métodos complementares: o método FRAP e o método de inibição do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). O método FRAP avalia a capacidade do antioxidante em reduzir o íão férrico do complexo Fe(III)/ferricianeto [ $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ ] a Fe(II). Seguiu-se uma metodologia previamente descrita (Thaipong et al., 2006) com ligeiras modificações, utilizando uma curva de calibração de sulfato ferroso. Resumidamente, colocaram-se em tubo de ensaio 90 µl de extrato, 270 µl de água destilada e 2,7 ml de reagente FRAP (750 ml de tampão acetato 0,3 M, 75 ml de solução TPTZ 10 mM e 75 ml de cloreto férrico 20 mM). Homogeneizou-se e colocou-se em banho-maria a 37°C. Após 30 minutos efetuaram-se as leituras a 595 nm. No método DPPH• avalia-se a capacidade dos antioxidantes atuarem como sequestradores de radicais livres ou como doadores de hidrogénio. Neste método os extratos (300 µl) foram misturados com 2,7 ml de uma solução etanólica de DPPH• ( $6 \times 10^{-5}$  M). A mistura foi agitada vigorosamente e mantida no escuro até leituras estáveis de absorvência a 517 nm.

### Análise estatística

A análise estatística foi efectuada com o software SPSS v. 21 (IBM Corp., Armonk, NY, USA). Todos os resultados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão. Usou-se a análise ANOVA para avaliar a existência de diferenças entre as diversas médias seguida do teste *post-hoc* Tukey's HSD para comparações múltiplas. Usaram-se testes de correlação de Pearson para avaliar a existência de relações lineares entre os teores de compostos bioativos e a actividade antioxidante. O nível de significância ( $p$ ) de todos os testes estatísticos foi 0,05.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

É cada vez mais consensual entre a comunidade científica que os compostos fenólicos (Figura 1) desempenham um papel primordial na manutenção e promoção da saúde humana, por atuarem como reguladores do stresse oxidativo em humanos. Como resultado, podem atuar como agentes preventivos de doenças, nomeadamente diabetes e obesidade, doenças do sistema cardiovascular ou cancro.

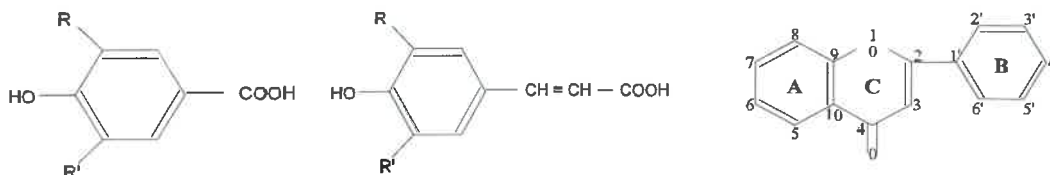


Figura 1. Os compostos fenólicos estão divididos em dois grandes grupos: os ácidos fenólicos (hidroxibenzoicos e hidroxicinâmicos) e os flavonoides, respetivamente.

Os teores destes compostos determinados nos diversos extratos de flores secas de dragoeiro apresentam-se na Tabela 1. O primeiro aspeto a realçar é a existência de teores apreciáveis de compostos fenólicos nas flores de dragoeiro. Também é de salientar a importância da natureza do solvente utilizado na obtenção dos extratos. A extração hidroalcoólica foi mais eficiente, uma vez que as moléculas em questão, apesar de apresentarem grupos carboxílicos e hidroxílicos (hidrofílicos) possuem também um núcleo hidrófobo (Figura 1). Os extratos hidroalcoólicos não só apresentaram teores superiores de compostos bioativos, como maior atividade antioxidante (pelo método FRAP) (Tabela 2).

Tabela 1. Teores de fitoquímicos presentes na flor de *Dracaena draco* L..

	Fenóis totais (mg EAG/L)	Flavonoides (mg ECE/L)
Extrato Aquoso	38,2±0,1 <sup>b</sup>	5,80±0,11 <sup>b</sup>
Extrato Hidroalcoólico	72,5±0,1 <sup>a</sup>	6,66±0,03 <sup>a</sup>
Extrato Etanólico	23,7±0,4 <sup>c</sup>	2,48±0,04 <sup>c</sup>

\*diferentes sobrescritos indicam a existência de diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes extratos.

Tabela 2. Atividade antioxidante dos diferentes extratos estudados.

	A.A. FRAP mg ESF/L	A.A. DPPH <sup>•</sup> mg DPPH/L
Extrato Aquoso	41,35±0,34 <sup>b</sup>	448,72±11,3 <sup>a</sup>
Extrato Hidroalcoólico	68,61±2,74 <sup>a</sup>	429,33±2,77 <sup>b</sup>
Extrato Etanólico	42,72±0,17 <sup>b</sup>	58,08±0,10 <sup>c</sup>

\*diferentes letras indicam a existência de diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes extratos.

Os resultados das regressões lineares entre a atividade antioxidante dos extratos e os teores de fenólicos totais e flavonoides mostram correlações estatisticamente significativas entre os compostos analisados e a capacidade antioxidante determinada por ambos os métodos: FRAP e DPPH<sup>•</sup>. As correlações de Pearson obtidas entre o método FRAP e os fenólicos e flavonoides foi de  $r=0,939$  e  $r=0,620$ , respetivamente. O método DPPH<sup>•</sup> mostrou ter maior correlação com os compostos bioativos,  $r=0,696$  e  $r=0,971$  para os fenólicos totais e flavonoides, respetivamente. Estes resultados estão concordantes com os de outros autores que vêm sublinhando a importância do papel dos compostos fenólicos e flavonoides de matrizes vegetais como antioxidantes (Corral-Aguayo et al., 2008; Mahattanatawee et al., 2006).

## CONCLUSÕES

Foi possível extrair compostos fenólicos e flavonoides da flor do dragoeiro em teores que atingem 72,5 mg EAG/L e 6,66 mg ECE/L respetivamente. A natureza do solvente extrator mostrou ser determinante no rendimento da extração. Os extratos apresentaram capacidade antioxidante linearmente correlacionada com os teores de fenóis totais e flavonoides. Em suma, os resultados

obtidos indicam que a flor do dragoeiro pode ser uma importante fonte de compostos fenólicos. A incorporação dos seus extratos em peloides para cosmética poderá ser benéfica dada a sua atividade antioxidante.

## AGRADECIMENTOS

R. C. Alves agradece à FCT a bolsa de pós-doutoramento (SFRH/BPD/68883/2010) financiada por POPH - QREN - Tipologia 4.1 - Formação Avançada, subsidiada pelo FSE e MCTES. Este trabalho foi financiado pela FCT (PEst-C/EQB/LA0006/2011).

## REFERÊNCIAS

- Alves, R., Costa, A., Jerez, M., Casal, S., Sineiro, J., Núñez, M., Oliveira, M.B.P.P. 2010. Antiradical activity, phenolic profile, and hydroxymethylfurfural in expresso coffee: influence of technological factors. *Journal of Agricultural Food Chemistry* **58**: 12221-12229.
- Barroso, M, Noronha, J., Delerue-Matos, C., Oliveira, M.B.P.P. 2011. Flavored waters: influence of ingredients on antioxidante capacity and terpenoid profile by HS-SPME/GC-MS. *Journal Agricultural Food Chemistry*, **59**: 5062-5072.
- Corral-Aguayo, R., Yahia, E.M., Carrillo-Lopez, A., Gonzalez-Aguilar, G.A. 2008. Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. *Journal Agricultural Food Chemistry* **56(22)**:10498–10504.
- Darias, V., Bravo, L., Rabanal, L., Sanchez Mateo, C., Gonzales, L.R.M., Hernandez Perez, A.M. 1989. New contribution to the ethenopharmacological study of the Canary Islands. *Journal Ethnopharmacology* **25**: 77-92.
- Dietrich K. 1920. *Analysis of Resins* p.201 through Barry *et al.* (1926) *Natural and Synthetic Resins* 83-89.
- Ferreira, A., Proença, C., Serralheiro, M.L.M., Araújo, M.E.M. 2006. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, **108**: 31-37
- Gonzalez A.G., Leon, F., Sánchez-Pinto, L., Padrón, J.I., Bermejo, J. 2000. Phenolic compounds of Dragon's blood from *Dracaena draco*. *Journal Natural Products* **63(9)**: 1297-1309.
- Gonzalez, A.G., Hernandez, J.C., Leon, F. 2003. Steroidal saponins from the bark of *Dracaena draco* and their cytotoxic activities. *Journal Natural Products* **66**:793–8.
- Gupta, D., Bleakley, B., Gupta, R. 2008. Dragon's blood: Botany, chemistry and therapeutic uses. *Journal of Ethnopharmacology*, **115**, 361–380.
- Hernández, J.C., León, F., Estévez, F., Quintana, J., Bermejo, J. 2006. A homo-isoflavonoid and a cytotoxic saponin from *Dracaena draco*. *Chemistry & Biodiversity*, **3**: 62–67
- Mahattanatawee, K., Manthey, J., Luzio, G., Talcott, S., Goodner, K., Baldwin, E. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-grown tropical fruits. *Journal Agricultural Food Chemistry* **54(19)**: 7355–7363.
- Piozzi F., Passannanti S., Paternostro, M.P. 1974. Diterpenoid resin acids of *Daemonorops draco*. *Phytochemistry* **13**: 2331-2233.
- Rodríguez-Sánchez, F., Guzman, B., Valido, A. Vargas, P., Arroyo, J. 2009. Late Neogene history of the laurel tree (*Laurus* L., Lauraceae) based on phylogeographical analyses of Mediterranean and Macaronesian populations. *Journal of Biogeography* **36**: 1270–1281.
- Santos, R.P., Mendes, L.S., Silva, B.M., Guedes de Pinho, P., Valentão, P., Andrade, P.B., Pereira, J.A., Carvalho, M. 2011. Phytochemical profiles and inhibitory effect on free radical-induced human erythrocyte damage of *Dracaena draco* leaf: A potential novel antioxidant agent. *Food Chemistry* **124**: V
- Silva, B., Santos, R., Mendes, L., Guedes de Pinho, P., Valentão, P., Andrade, P., Pereira, J., Carvalho, M. 2011. *Dracaena draco* L. fruit: Phytochemical and antioxidant activity assessment. *Food Research International* **44**: 2182–2189.

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneroszevallos, L., Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, mFRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis* **19**: 669-675.