

11º Encontro de Química dos Alimentos

Qualidade dos alimentos: novos desafios

Bragança, 2012
16-19 Setembro

Atas

ISBN
978-972-745-141-8



Avaliação da bioatividade do corpo frutífero e esporos de *Ganoderma lucidum*

Sandrina A. Heleno,^{a,b} Catarina Tavares,^c Josiana A. Vaz,^{c,d} Gabriela M. Almeida,^c M.
Helena Vasconcelos,^{c,d} Anabela Martins,^b Maria João R.P. Queiroz,^a
Isabel C.F.R. Ferreira^{b*}

^aCentro de Química, Universidade do Minho, Braga. ^bCentro de Investigação de Montanha, Escola Superior Agrária, Bragança. ^cIPATIMUP – Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto.

^dDepartamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto.

*iferreira@ipb.pt

Palavras chave: *Ganoderma Lucidum*; Corpo Frutífero/Esporos; Extrato Fenólico; Atividade Antioxidante; Atividade Antiproliferativa.

RESUMO

Ganoderma lucidum é uma das espécies de cogumelos mais estudadas do mundo devido às suas propriedades medicinais. Este trabalho descreve a avaliação da capacidade antioxidante *in vitro* e antiproliferativa em células tumorais do extrato obtido a partir de diferentes partes do cogumelo. A atividade antioxidante dos extratos metanólicos, obtidos a partir das duas amostras, foi avaliada através da captação de radicais livres, poder redutor e inibição da peroxidação lipídica pela descoloração do β -caroteno e em homogeneizados de células cerebrais animais. A atividade antiproliferativa dos mesmos extratos foi avaliada em quatro linhas celulares tumorais humanas (pulmão- NCI-H460, mama- MCF-7, cólon- HCT-15 e estômago- AGS) pelo método da sulforrodamina B. Os extratos foram caracterizados por HPLC-DAD-MS.

1. INTRODUÇÃO

Ganoderma lucidum (Curtis) P. Karst. é um macrofungo Basidiomycota da ordem Polyporales e família Ganodermataceae, bastante utilizado como alimento funcional e suplemento dietético em todo o mundo [1]. As suas propriedades medicinais parecem incluir capacidade de diminuição do risco de cancro, prevenção de doenças cardíacas e reforço do sistema imunitário [2]. Estas propriedades têm sido relacionadas com a enorme variedade de compostos bioativos nomeadamente, polissacáridos, triterpenos, esteróides, lectinas e algumas proteínas [3]. Existem também alguns estudos sobre as propriedades antioxidantes do extrato metanólico de *G. lucidum* [4] e dos seus compostos fenólicos [5].

Esta espécie tem sido muito investigada na China, Coreia, Japão e EUA [2] e, mais recentemente, na Europa [6]. No entanto, ainda não tinham sido caracterizadas amostras de *G. lucidum* provenientes de Portugal. Sendo uma potencial fonte de compostos bioativos, esta espécie silvestre pode ser utilizada como fonte de nutracêuticos e/ou alimento funcional.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostras e preparação dos extratos

As amostras de *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. foram colhidas em Bragança (Nordeste de Portugal) em julho de 2011. Após a sua identificação taxonómica, algumas amostras foram guardadas no Herbário da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança. As amostras foram divididas em corpo frutífero e esporos com a ajuda de um bisturi e, posteriormente, liofilizadas e pulverizadas.

Os extratos foram obtidos usando metanol:água 80:20 (v/v) como solvente de extração realizada a -20 °C.

2.2. Avaliação da atividade antioxidante

A atividade captadora de radicais DPPH foi avaliada usando um leitor de microplacas através da diminuição da percentagem de descoloração desses radicais: $[(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{S}})/A_{\text{DPPH}}] \times 100$, onde A_{S} é a absorvância da solução que contém a amostra a 515 nm, e A_{DPPH} é a absorvância da solução de DPPH. O poder redutor foi avaliado através da capacidade da transformação do Fe^{3+} em Fe^{2+} , medindo-se a absorvância a 690 nm no leitor de microplacas acima mencionado. A inibição da descoloração do β -caroteno foi avaliada através da neutralização de radicais livres de linoleato e calculada através da fórmula: (absorvância do β -caroteno após 2h de ensaio/conteúdo inicial de β -caroteno) $\times 100$. A inibição da peroxidação lipídica em homogeneizado cerebral de porco foi avaliada pela diminuição da formação de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) acompanhada através da absorvância a 532 nm. A percentagem de inibição da peroxidação lipídica (%) foi calculada utilizando a seguinte fórmula: $[(A - B)/A] \times 100\%$, onde A e B eram as absorvâncias do controlo e da solução com a amostra, respetivamente. Todos os resultados foram expressos em valores de EC_{50} (concentração de extrato responsável por 50% de atividade antioxidante ou 0,5 de absorvância no ensaio do poder redutor). Utilizou-se trolox como padrão.

2.3. Avaliação da atividade antiproliferativa

A atividade antiproliferativa dos mesmos extratos foi avaliada em quatro linhas celulares tumorais humanas (pulmão- NCI-H460, mama- MCF-7, cólon- HCT-15 e estômago- AGS) pelo método da sulforrodamina B. Todos os resultados foram expressos em valores de GI_{50} (concentração de extrato responsável por 50% de atividade antiproliferativa).

2.4. Caracterização dos extratos

Os extratos foram caracterizados através de HPLC-DAD-MS, de acordo com os seus espectros de UV e MS e comparação dos tempos de retenção com padrões. Para a quantificação dos compostos fenólicos, utilizaram-se curvas de calibração dos diferentes compostos fenólicos identificados.

Mais detalhes sobre a metodologia poderão ser consultados na referência [7].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O extrato obtido a partir do corpo frutífero revelou maior atividade antioxidante do que o extrato de esporos (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade antioxidante (expressa em valores de EC₅₀; mg/mL) dos extratos obtidos a partir do corpo frutífero e dos esporos de *G. Lucidum*.

	Atividade captadora de DPPH	Poder Redutor	Inibição da descoloração do β-caroteno	Inibição formação de TBARS
Corpo frutífero	0,14 ± 0,01	0,62 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,10 ± 0,01
Esporos	0,58 ± 0,04	1,25 ± 0,04	1,61 ± 0,21	0,77 ± 0,01

O extrato obtido a partir do corpo frutífero revelou uma atividade antiproliferativa em linhas celulares tumorais moderada, enquanto o extrato obtido a partir dos esporos mostrou uma baixa atividade nas linhas celulares NCI-H460 e HCT15 e nenhuma atividade nas restantes linhas na máxima concentração testada (400 µg/mL) (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade antiproliferativa (expressa em valores de GI₅₀; µg/mL) dos extratos obtidos a partir do corpo frutífero e dos esporos de *G. Lucidum*.

	NCI-H460	HCT-15	MCF-7	AGS
Corpo frutífero	107,5 ± 5,3	103,4 ± 13,2	112,6 ± 6,7	93,3 ± 9,1
Esporos	386,9 ± 11,15	280,8 ± 11,17	> 400	> 400

O corpo frutífero apresentou maior quantidade de ácidos fenólicos do que os esporos. Os ácidos *p*-hidroxibenzoico e *p*-cumárico foram os principais ácidos fenólicos identificados no corpo frutífero, bem como o ácido cinâmico. Os esporos não apresentaram ácido *p*-hidroxibenzoico (Tabela 3).

Tabela 3. Caracterização química dos extratos obtidos a partir do corpo frutífero e dos esporos de *G. Lucidum*.

	Corpo frutífero	Esporos
Ácido <i>p</i> -hidroxibenzóico (mg/100 g dw)	0,58 ± 0,04	nd
Ácido <i>p</i> -cumárico (mg/100 g dw)	0,38 ± 0,03	0,28 ± 0,03
Ácido cinâmico (mg/100 g dw)	0,28 ± 0,03	0,33 ± 0,02
Total (mg/100 g dw)	1,23 ± 0,04	0,61 ± 0,05

dw- massa seca; nd- não detetado.

Apesar dos compostos fenólicos estarem associados a vários efeitos benéficos para a saúde humana, pouco se sabe sobre as formas bioativas *in vivo*, atendendo às concentrações disponíveis na corrente sanguínea após ingestão, assim como à possibilidade de conjugação e metabolismo. Estão a sintetizar-se possíveis metabolitos dos compostos identificados nos extratos para avaliar a sua potencial bioatividade.

Agradecimentos: FCT e FEDER, COMPETE/QREN/EU- Projeto PTDC/AGR-ALI/110062/200, centros de investigação PEst-C/QUI/UI0686/2011 e PEst-OE/AGR/UI0690/2011, e SFRH/BD/70304/2010 de S.A. Heleno.

Referências:

- [1] R Sullivan, JE Smith & NJ Rowan, *Perspect Biol Med*, 2006, 49, 159–170.
- [2] RRM Paterson, *Phytochemistry*, 2006, 67, 1985–2001.
- [3] ICFR Ferreira, JA Vaz, MH Vasconcelos & A Martins, *Anticancer Agents Med Chem.*, 2010, 10, 424–436.
- [4] J-L Mau, H-C Lin & C-C Chen, *J Agric Food Chem*, 2002, 50, 6072–6077.
- [5] M-Y Kim, P Seguin, J-K Ahn, J-J Kim, S-C Chun, E-H Kim, et al., *J Agric Food Chem*, 2008, 56, 7265–7270.
- [6] R Saltarelli, O Ceccaroli, M Iotti, A Zambonelli, M Buffalini, L Casadei, et al., *Food Chemistry*, 2009, 116, 143–151.
- [7] S Heleno, L Barros, A Martins, MJRP Queiroz, C Santos-Buelga, ICFR Ferreira, *Food Res Int* 2012, 46, 135-140.