

Estratégias de Valorização de Plantas Aromáticas e Medicinais

Cynara cardunculus



Fátima Duarte
14 de Dezembro 2011



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

CEBAL (Centro de Biotecnologia Agrícola e Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral)

- Privada, sem fins lucrativos, localizada em Beja
- Início das actividades de I&D em Junho de 2008



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

ÁREAS DE INVESTIGAÇÃO

BIOTECNOLOGIA
AGRO-ALIMENTAR

ENGENHARIA
AGRO-ALIMENTAR

BIOTECNOLOGIA
AGRO-FLORESTAL

ENGENHARIA
QUÍMICA

GRUPOS DE INVESTIGAÇÃO

COMPOSTOS BIOACTIVOS

IP: Fátima Duarte
Pósdoc: a contratar
PhD: Patrícia Ramos
Ângela Guerra
Laura Felício
Olinda Guerreiro

VALORIZAÇÃO DE AGRO-ALIMENTOS

IP: Xavier Malcata
Pósdoc: Eliana Jerónimo

GENÓMICA AGRONÓMICA

IP: Sónia Gonçalves
Pósdoc: Teresa Ribeiro
PhD: Tânia Almeida
PhD: Tiago Capote
PhD: Ana Ferro
Sara Valente

ENGENHARIA DE PROCESSOS

IP: Luísa Neves
Pósdoc: Conceição Fernandes
Teresa Brás

I&D

COLABORAÇÃO TRANSVERSAL ENTRE OS VÁRIOS GRUPOS DE INVESTIGAÇÃO
VALORIZAÇÃO DE BIOMASSA AGRO-FLORESTAL E AGRO-ALIMENTAR

Valor
Aumentado



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

Valorização Biomassa

Resíduos e
sub-produtos agrícolas e
agro-industriais

Ameixa



Prunus domestica

Esteva



Cistus ladanifer

Cardo



Cynara cardunculus

Outras culturas
e/ou resíduos...

Bagaço da
Azeitona



Olea europaea

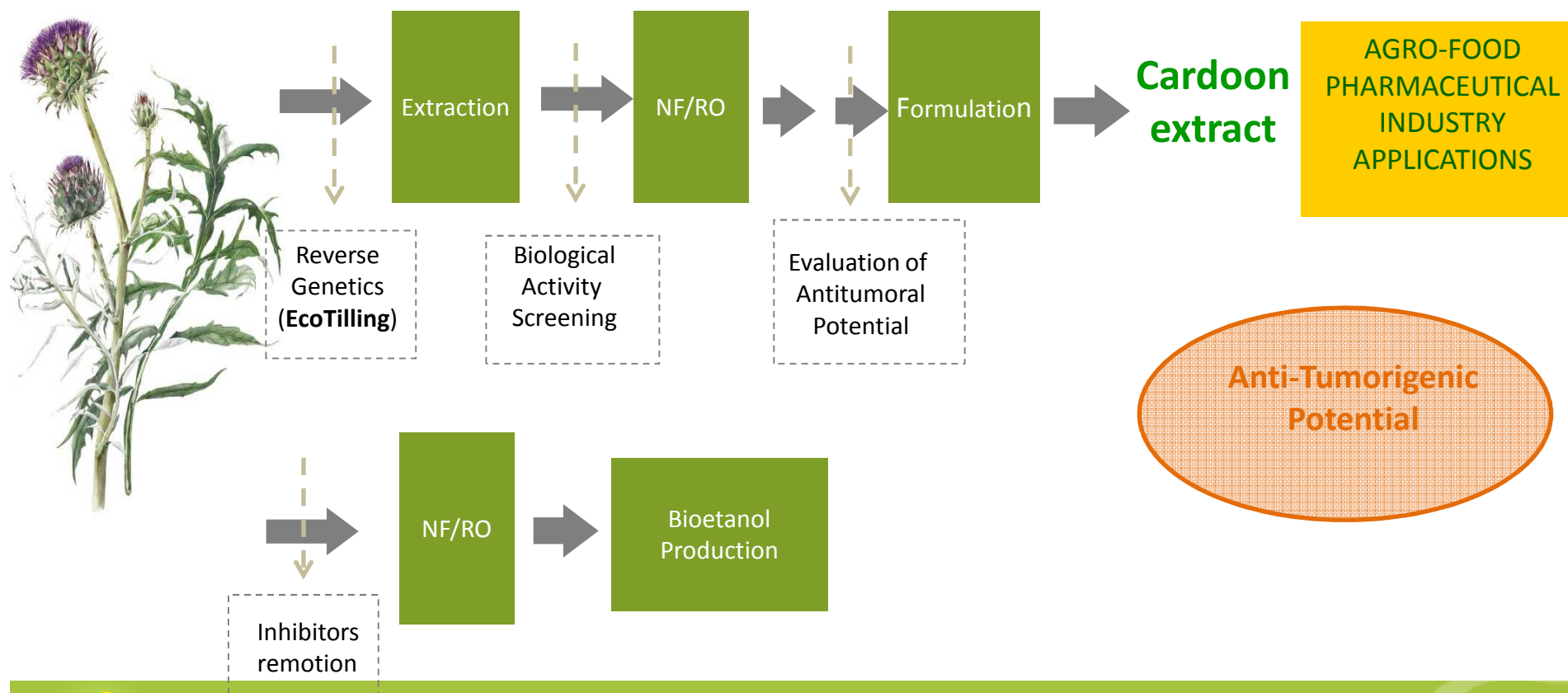
Cortiça

Quercus suber



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

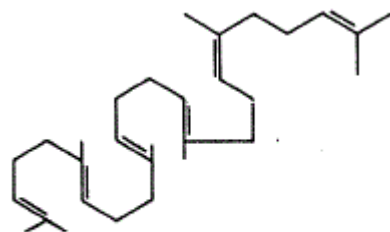
“BIOECOS – Valorização Integrada da Biomassa”



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

Cynara cardunculus

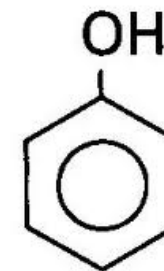
- Planta herbácea perene, pertencente à família das ***Asteraceae compositae***, originária da região do Mediterrâneo
- Duas variedades botânicas:
 - cultivada - *Cynara cardunculus* var. *altilis*
 - selvagem ou silvestre - *Cynara cardunculus* var. *sylvestris*
- Ampla utilização do cardo na indústria farmacêutica, devido às quantidades consideráveis de diferentes fitoquímicos:



–Triterpenóides

– Fenóis

(Petrovic et al., 2008)



Actividade biológica da fracção fenólica de extractos de *Cynara cardunculus*

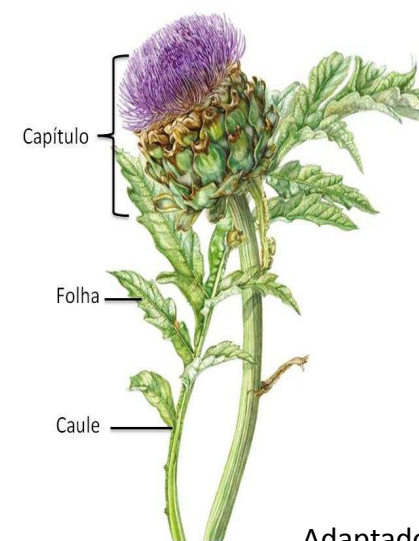
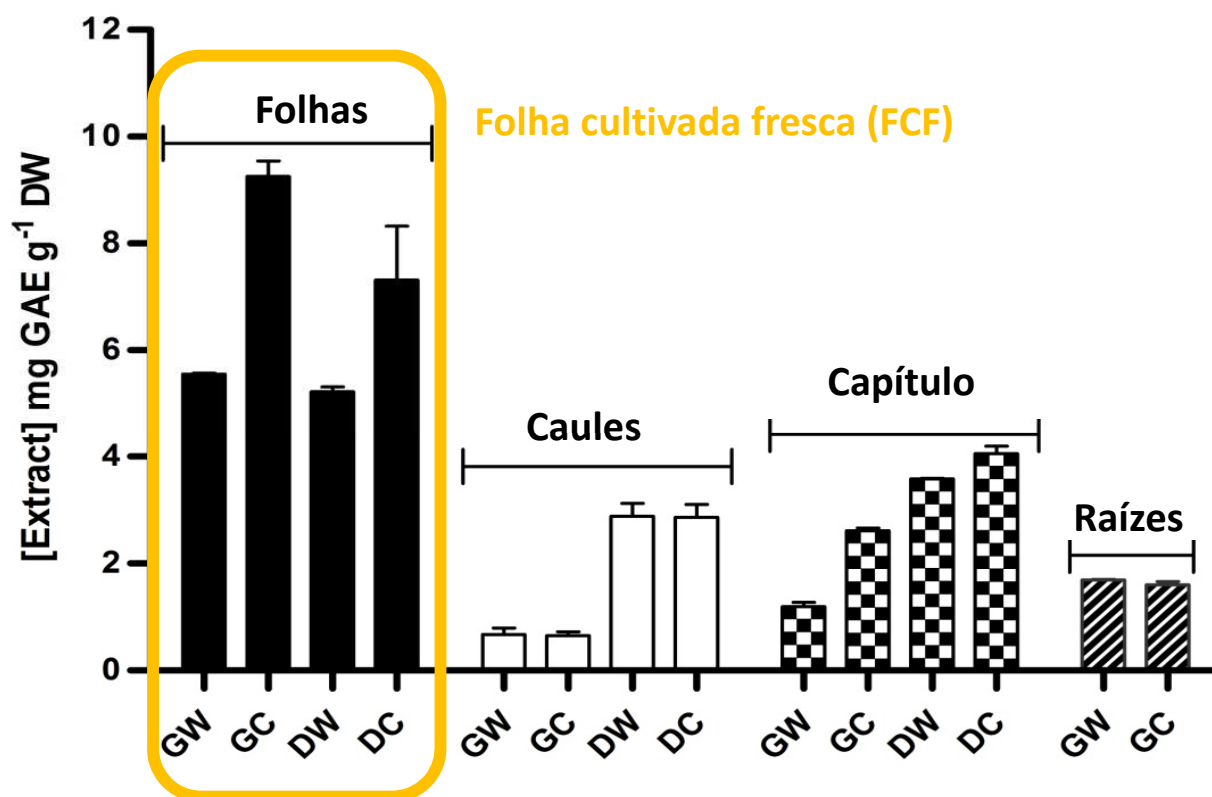
- Anti-oxidante
- Anti-fibrótica
- Anti-inflamatória
- Anti-microbiana
- Anti-hepatotóxica
- **Anti-tumoral**

(Fernández *et al.*, 2006)



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

Caracterização do potencial biológico de extractos de CC



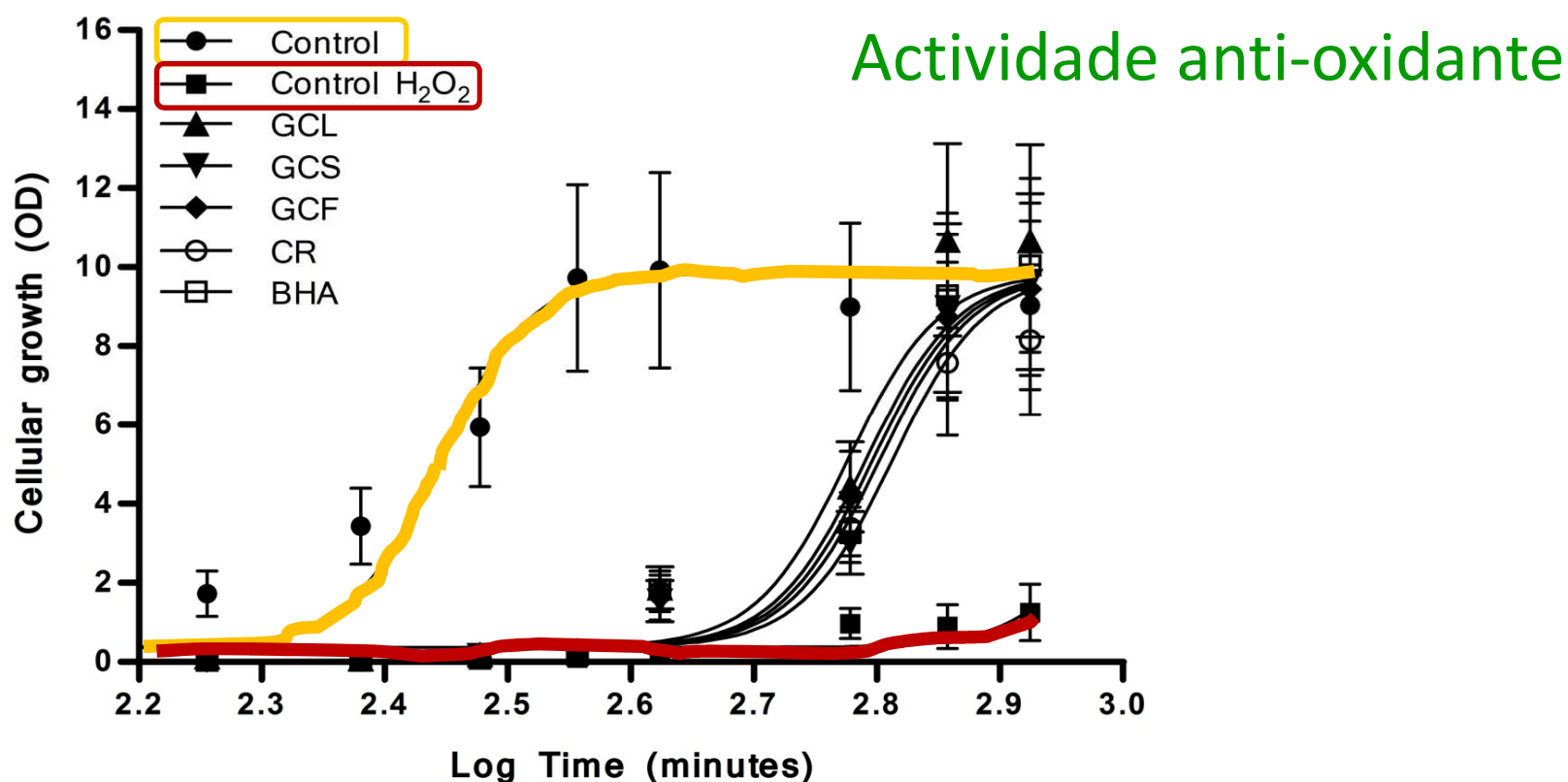
Adaptado de
<http://www.soc-botanical-artists.org/>

Quantificação dos compostos fenólicos totais em extractos metanólicos de *Cynara cardunculus* variedade cultivada e selvagem

Velez *et al.* submitted 2011



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral



Cellular growth during 16 hours of *S. cerevisiae* in YPD medium (filled circles), YPD medium with 0.1 mM H_2O_2 (filled squares), YPD medium with 0.1 mM H_2O_2 + 25 μg GAE mL^{-1} of GWL (filled triangles), GWS (inverted filled triangles), GWC (filled diamond), GCR (open circles) and 25 μg mL^{-1} BHA (open squares). Each value represents the mean \pm S.D. of three determinations.



Actividade biológica da fracção fenólica de extractos de *Cynara cardunculus*

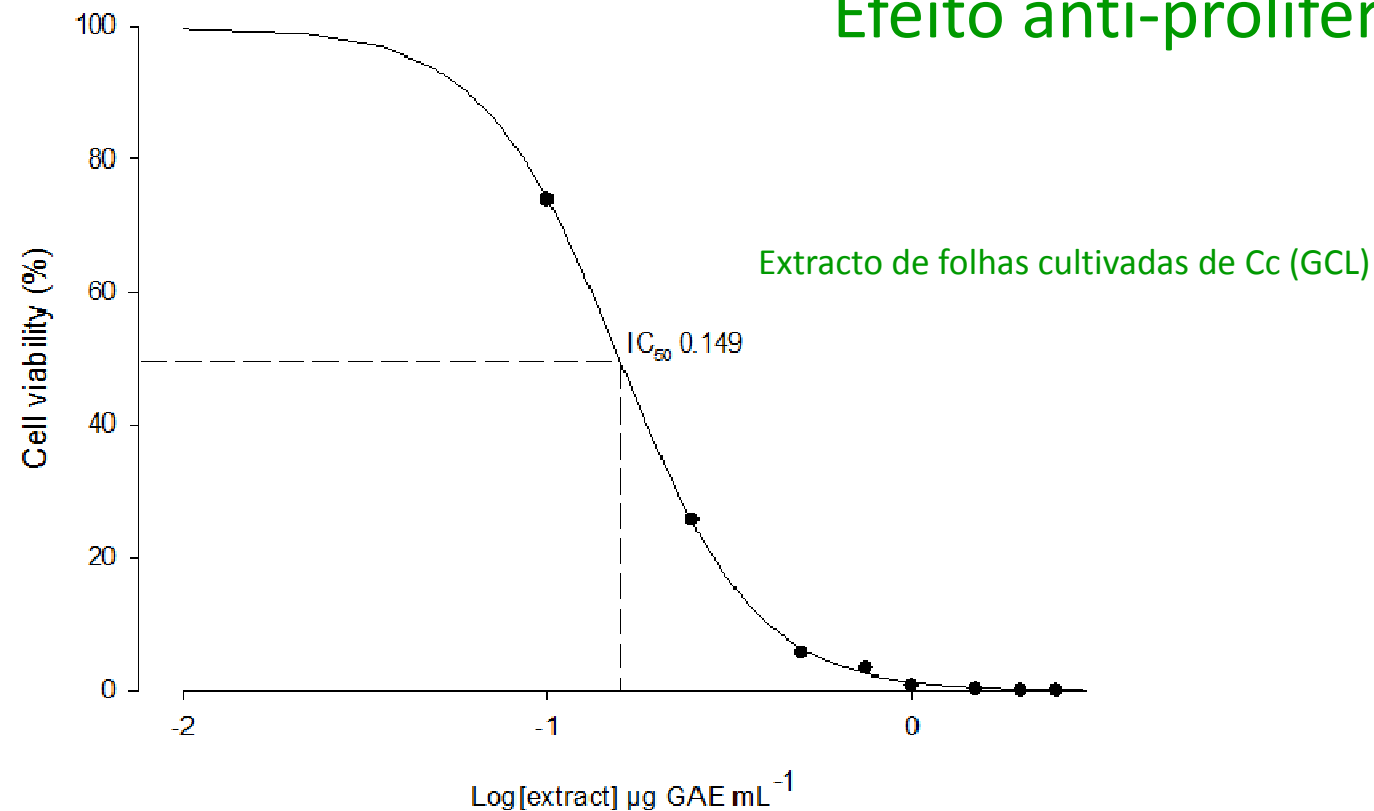
- ✓ Folhas de cardo cultivado parecem ser particularmente ricas em compostos fenólicos
- ✓ Extractos de folha de cardo cultivado apresentam um bom potencial anti-oxidante



Caracterização do potencial anti-tumorigénico de extractos de cardo, em células de cancro da mama (MDA-MB-231)



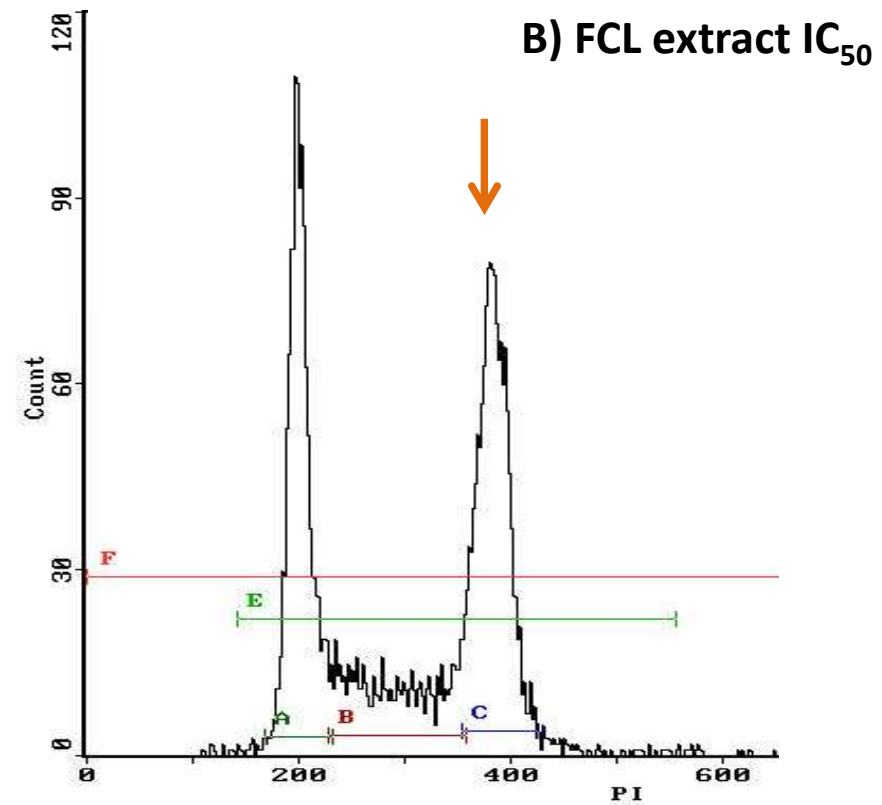
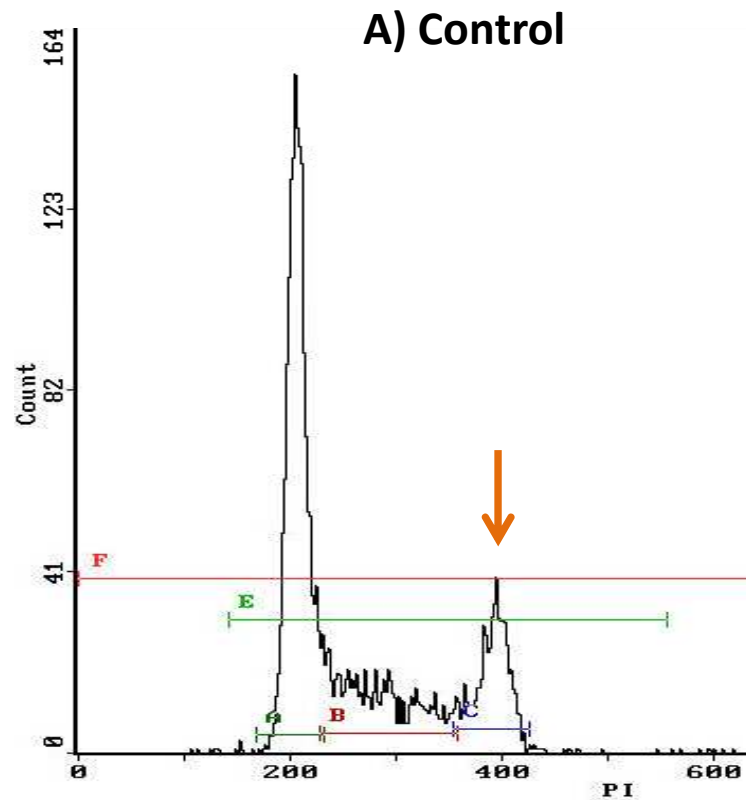
Efeito anti-proliferativo



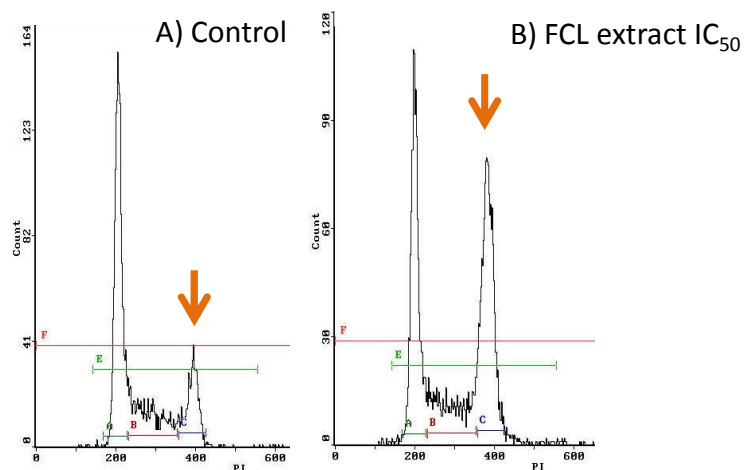
Dose response curve representative of the effect of green cultivated leaves (GCL) extracts on human breast cancer MDA-MB-231 cell viability. Extracts concentration range from 0.1 to 20 µg GAE mL⁻¹.



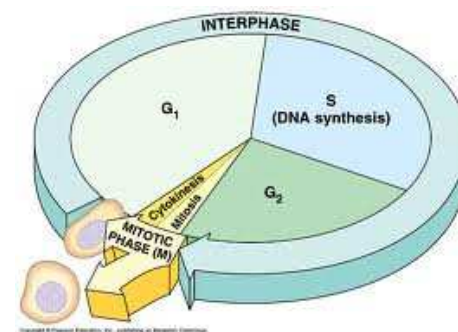
Estudo do ciclo celular



Caracterização do potencial anti-tumoral de extractos de CC



Análise do Ciclo Celular

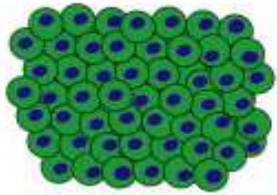


Cell cycle phase	% of control cells	% of treated cells with FCL IC_{50} value
G1	52,8	35,0
S	28,1	22,3
G2	19,6	40,4

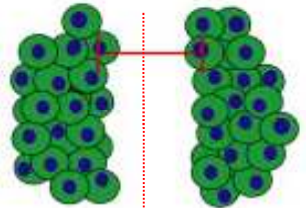


Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

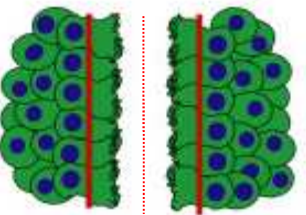
Cell monolayer



Wound



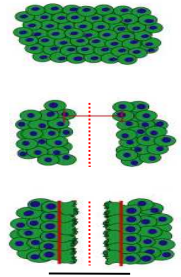
Migration (7-24h)



$$D = (L/2) - W_1$$

Invasão Celular Monolayer wound healing assay

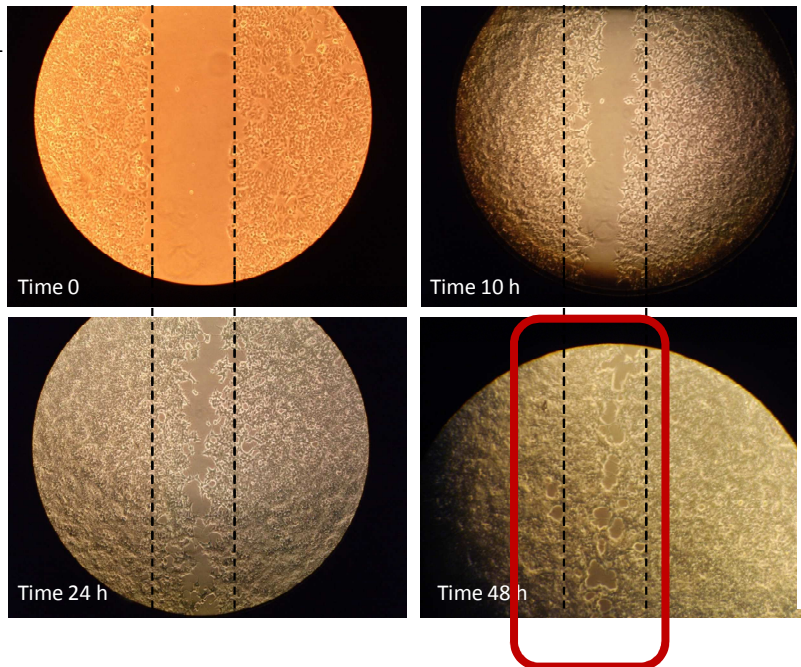




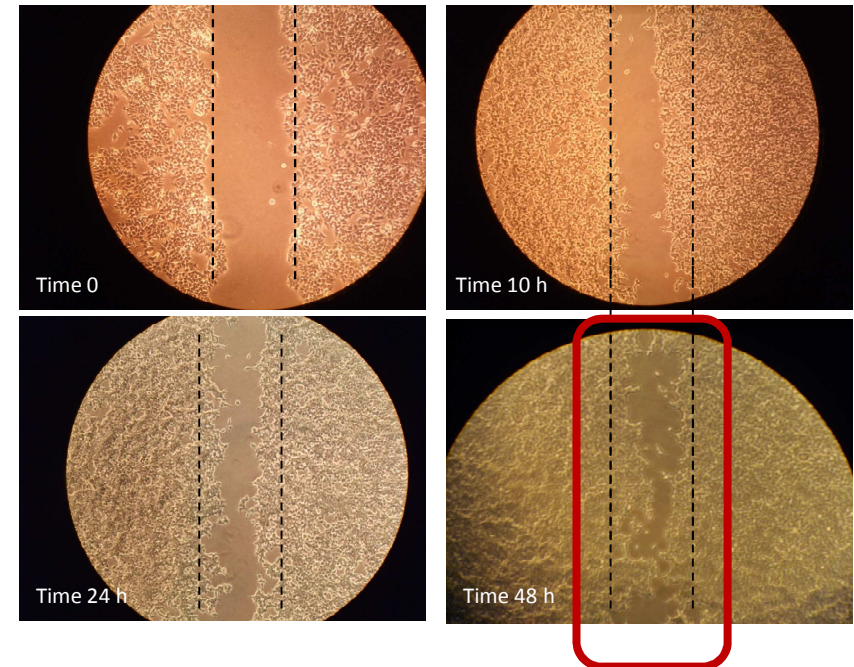
$$D = (L/2) - W_1$$

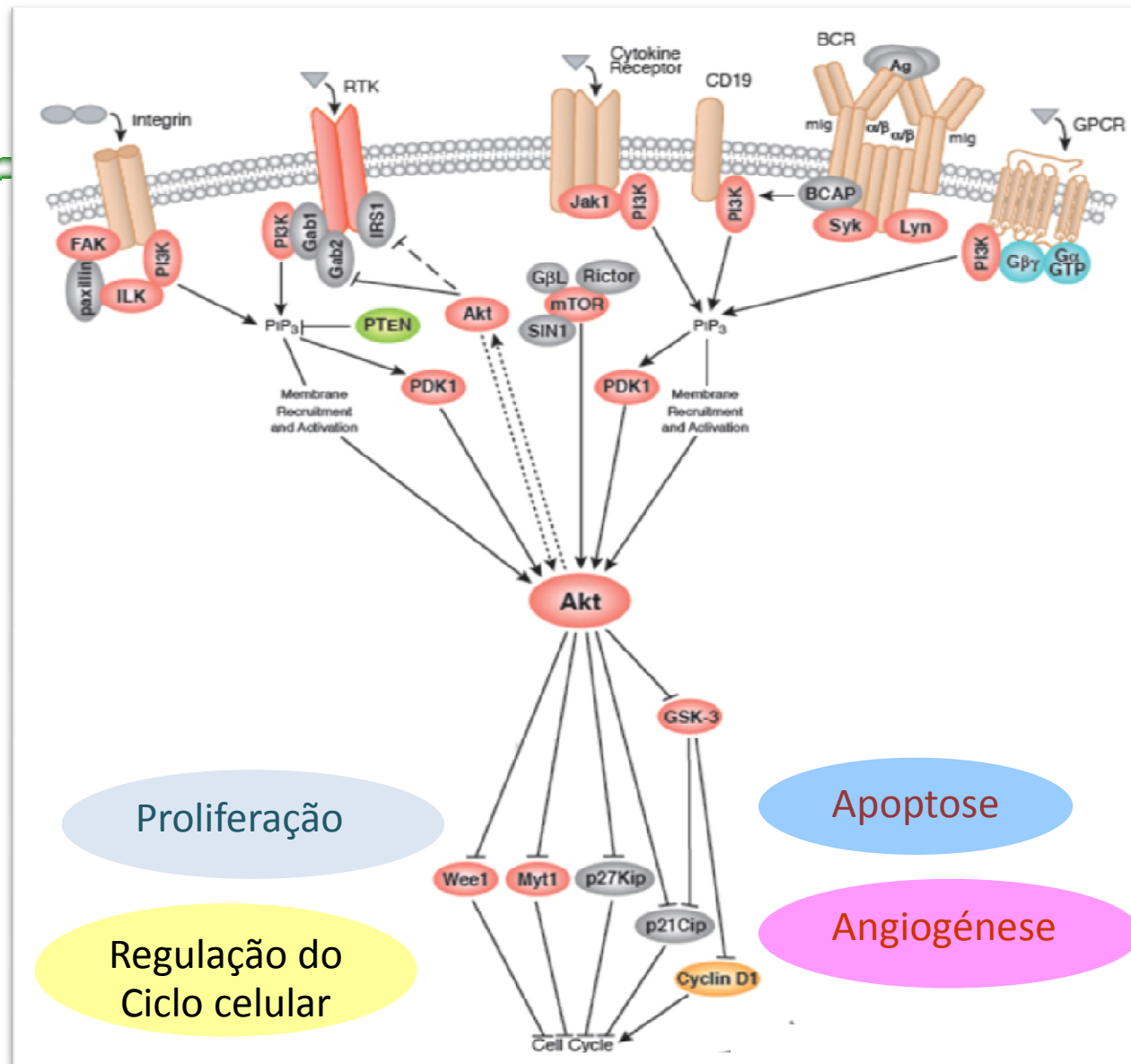
Invasão Celular Monolayer wound healing assay

Control



Cc green cultivated leaves (GCL) extract 70µg/ml

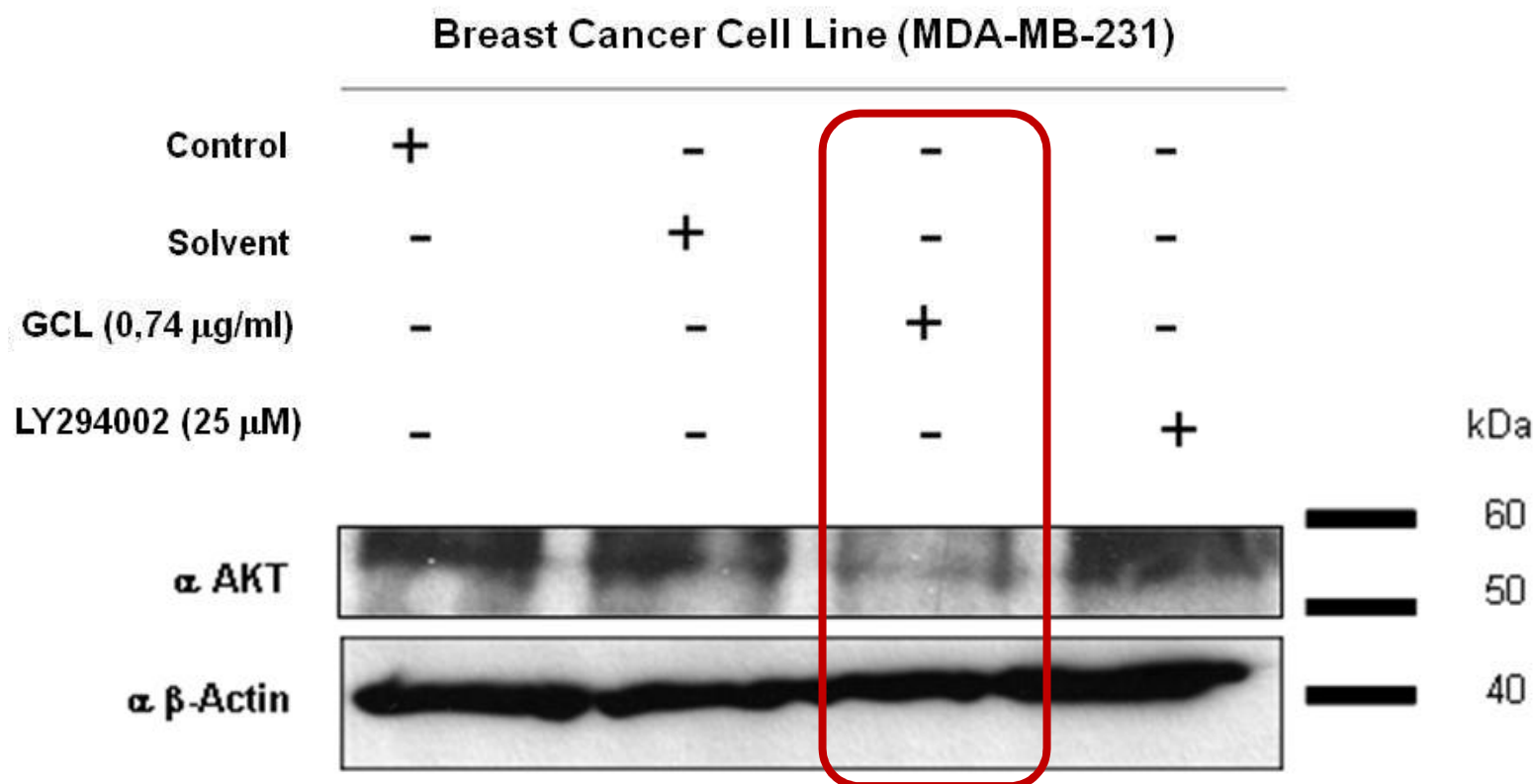




Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

Caracterização do potencial anti-tumoral de extractos de CC

Cc green cultivated leaves (GCL) extract



AKT1 protein immunodetection by western blot in MDA-MB-231 cells. Cells were incubated for 48 h with 0.74 µg GAE ml⁻¹ of GCL extract. A commercial inhibitor of the PI3K pathway, LY294002, was used as an internal control. Immunoblot for β-actin served as control.



Potencial anti-tumoral do extracto da folha de *Cynara cardunculus* (var. cultivada)

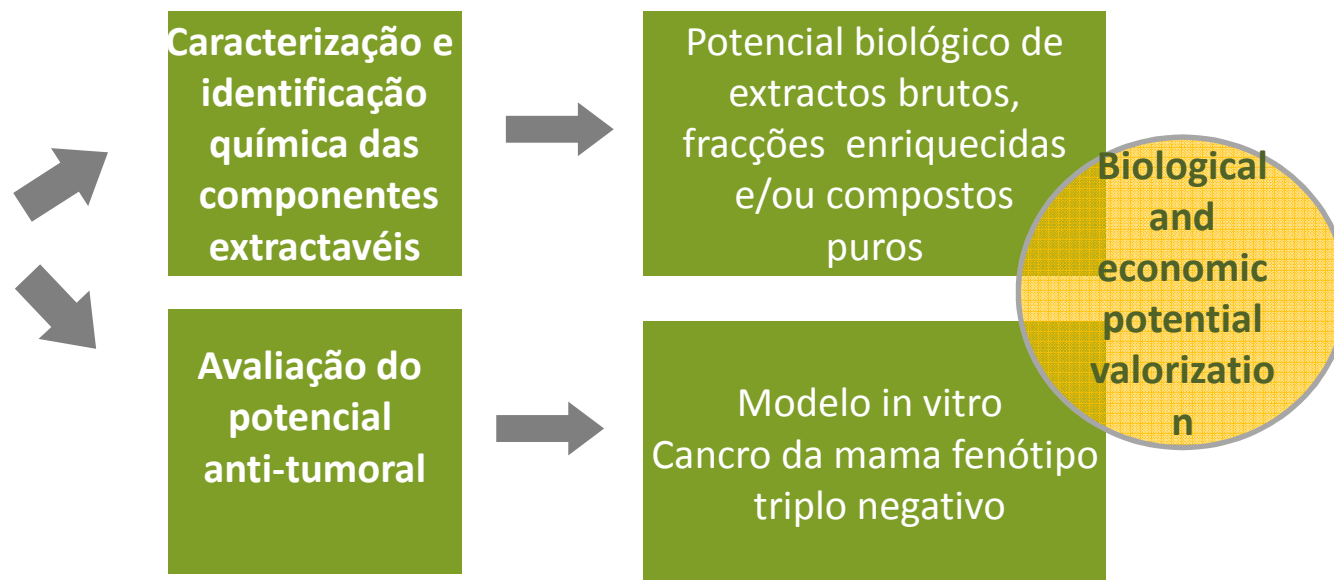
- ✓ Folhas de cardo cultivado parecem ser particularmente ricas em compostos fenólicos
- ✓ Extractos de folha de cardo cultivado apresentam um bom potencial anti-oxidante
- ✓ Capacidade anti-proliferativa bastante pronunciada, em células cancro da mama fenótipo triplo negativo
- ✓ Inibição da progressão normal do ciclo celular, em células tratadas com extracto de folha de cardo cultivado
- ✓ Redução da capacidade migratória
- ✓ Diminuição da expressão proteica do AKT



Potencial anti-tumoral do extracto da folha de *Cynara cardunculus* (var. cultivada)



Potencial anti-tumoral do extracto da folha de *Cynara cardunculus* (var. cultivada)



Dia aberto dedicado às plantas aromáticas e medicinais na Universidade de Évora

Estratégias de Valorização de Plantas Aromáticas e Medicinais

Cistus ladanifer



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral



Alimentação Animal

COMPOSTOS
BIOACTIVOS

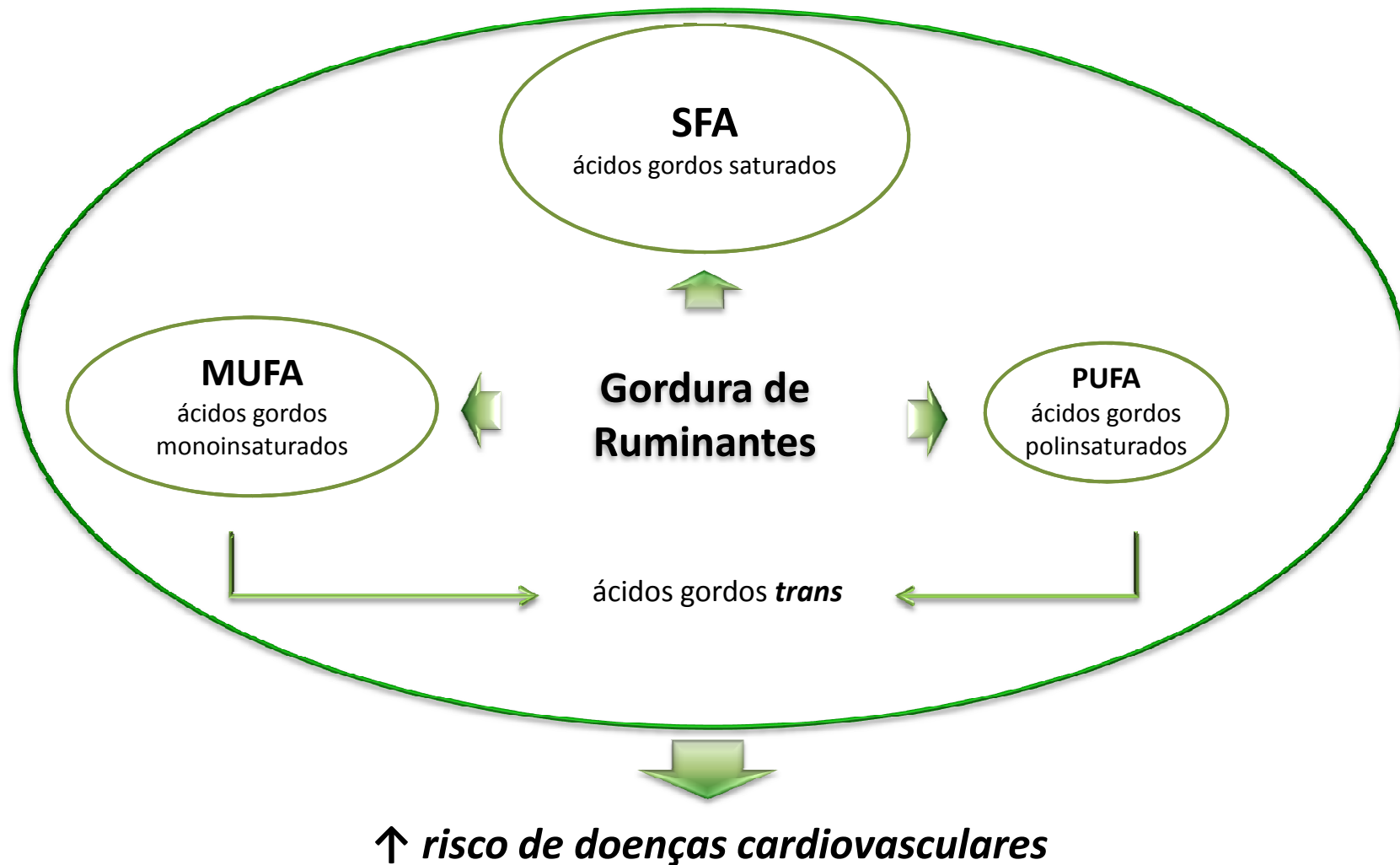
VALORIZAÇÃO
AGRO-ALIMENTOS

Produção de Bioetanol

ENGENHARIA
DE PROCESSOS

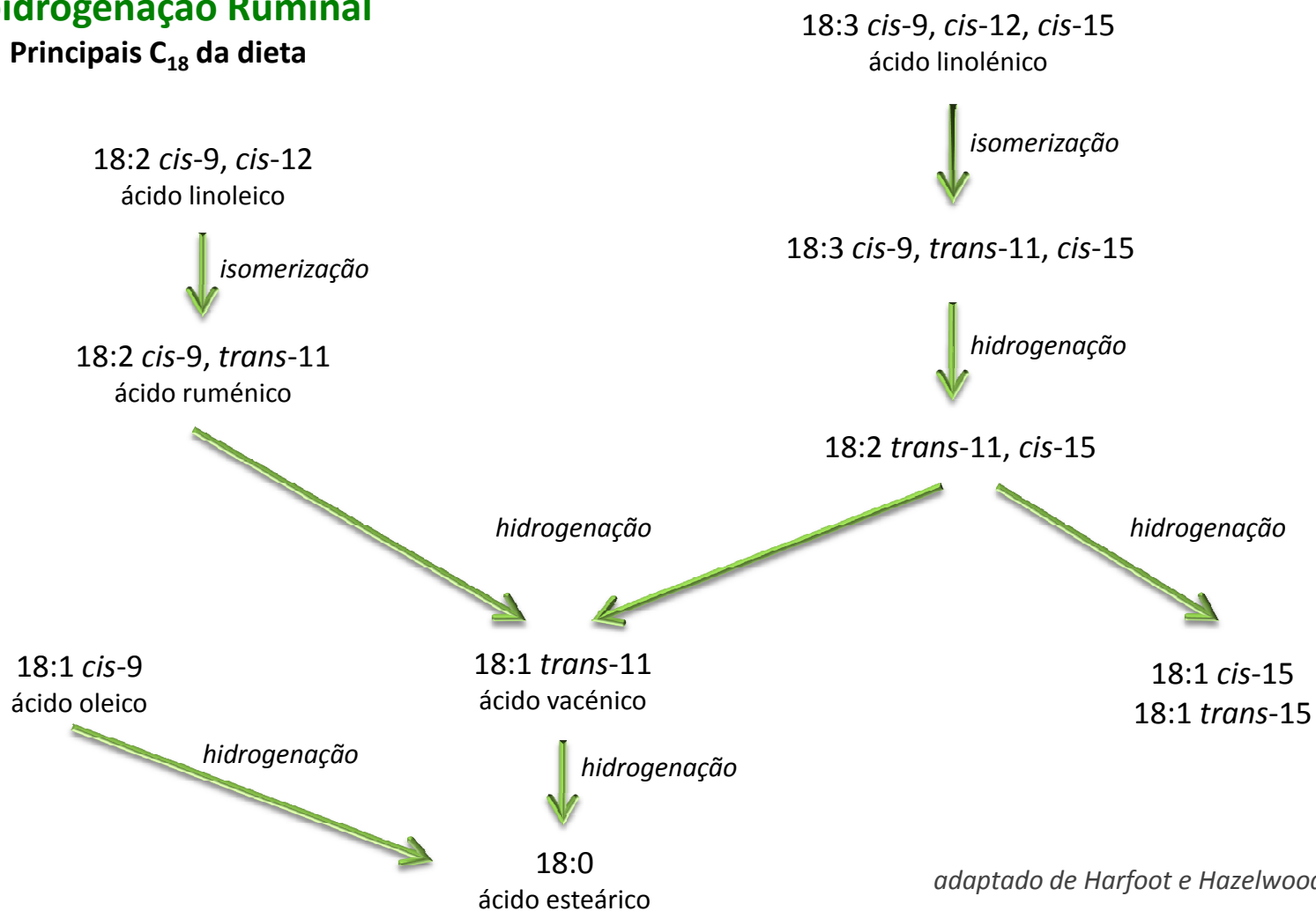


Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral



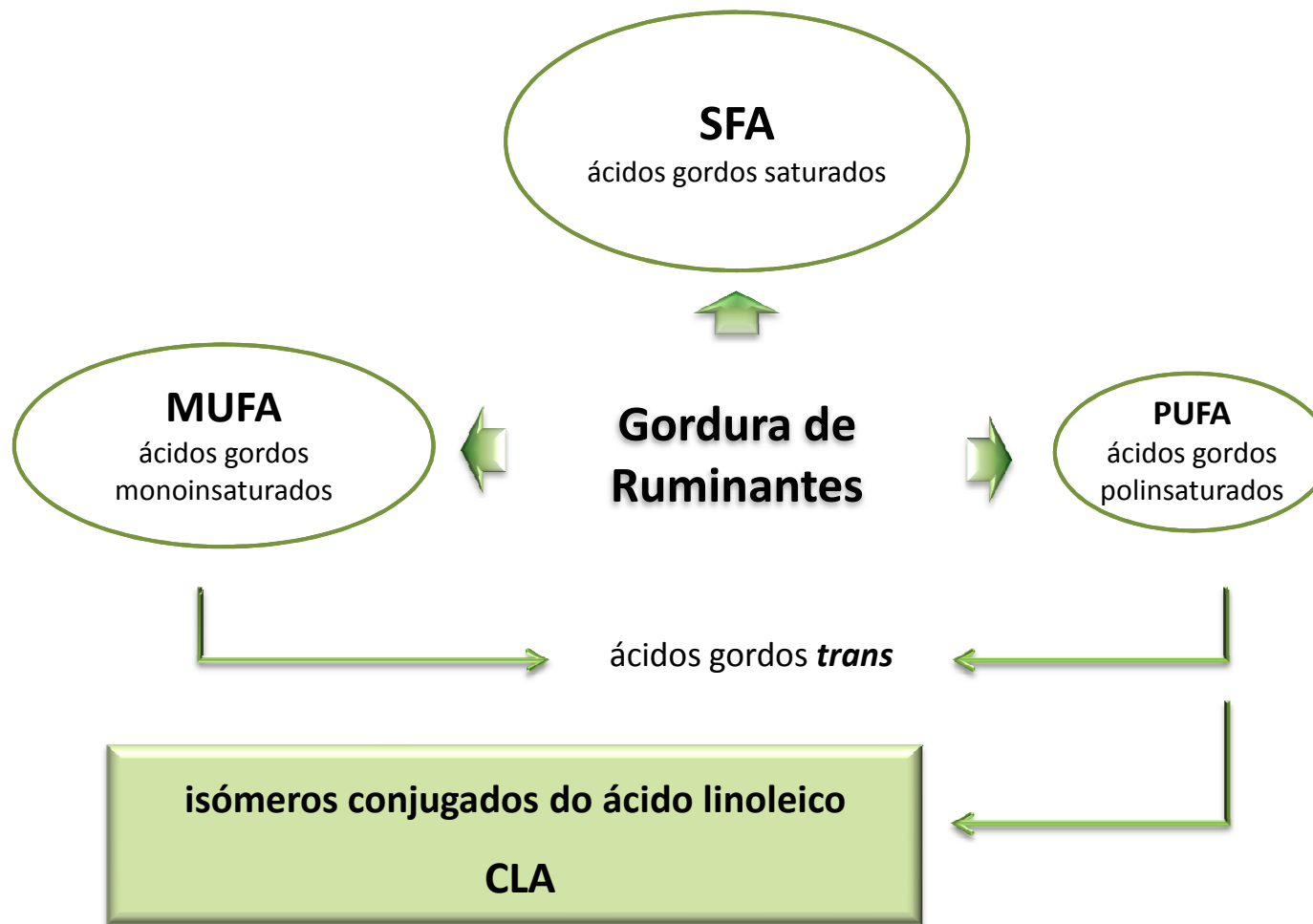
Biohidrogenação Ruminal

Principais C₁₈ da dieta



adaptado de Harfoot e Hazelwood, 1997





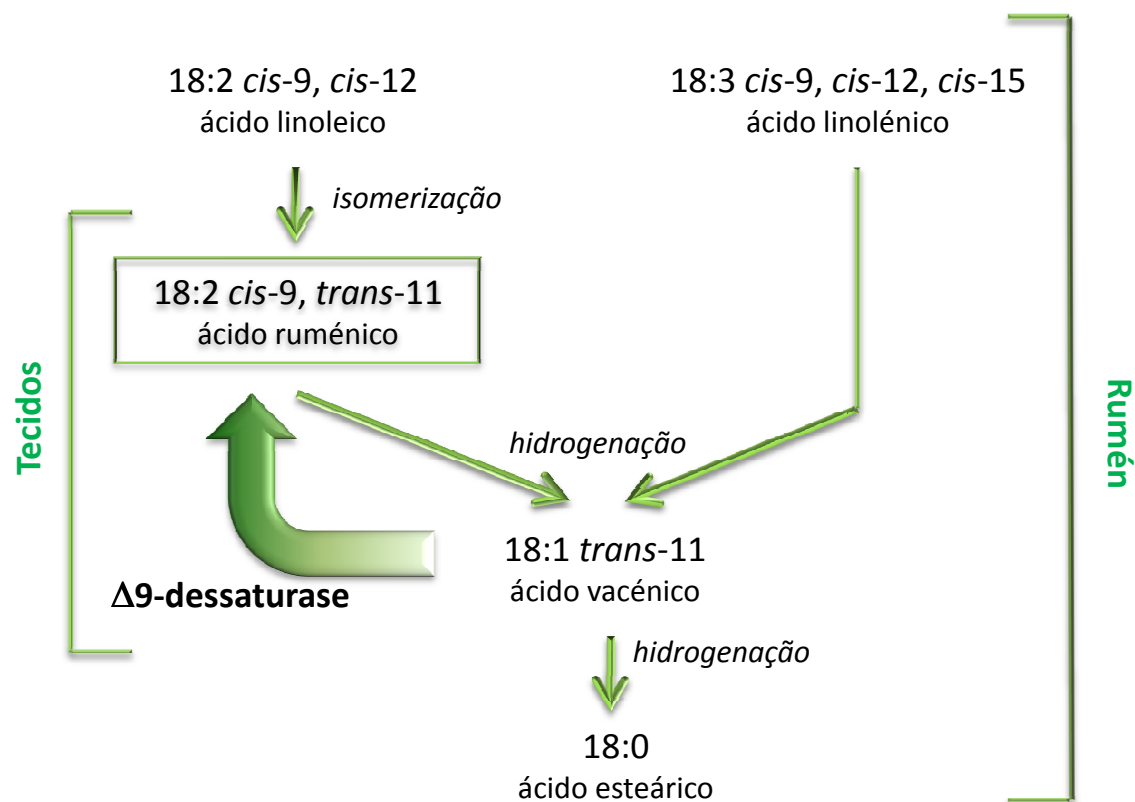
■ Isómeros conjugados do ácido linoleico (*Conjugated linoleic acid* – CLA)

Efeitos benéficos:

- Anti-carcinogénico
- Anti-adipogénico
- Anti-diabetogénico
- Anti-aterogénico
- Anti-inflamatório

Origem:

- Síntese ruminal
- Síntese endógena



Harfoot e Hazelwood, 1997; Griinari et al., 2000



■ Forragem/Pastagem

Santos-Silva et al., 2002, Bessa et al., 2005, Bessa et al., 2008

■ Suplementação com óleos vegetais ricos em ácidos gordos polinsaturado

Santos-Silva et al., 2004, Bessa et al., 2005, Bessa et al., 2007, Jerónimo et al., 2009, Jerónimo et al., 2010



↑ CLA

“Taninos condensados podem modular a biohidrogenação ruminal”

Khiaosa-Ard et al., 2009, Vasta et al., 2009, Vasta et al., 2010



■ Ensaio Experimental

Unidade de Investigação em Produção Animal,
Instituto Nacional de Recursos Biológicos

Animais

Borregos machos da raça Merino Branco

Dietas experimentais

Dieta base: 90% de luzerna desidratada + 10% de sêmea de trigo

Mistura de óleos vegetais: óleo de girassol e de linho (1:2)

Dieta base

Dieta base - **C**

+ 6% de óleo – **CO**

+ 25% de *Cistus ladanifer* – **CL**

+ 25% de *Cistus ladanifer* + 6% de óleo – **CLO**



Duração do ensaio – 6 semanas



■ Desempenho produtivo

✓ *Não foi afectado*

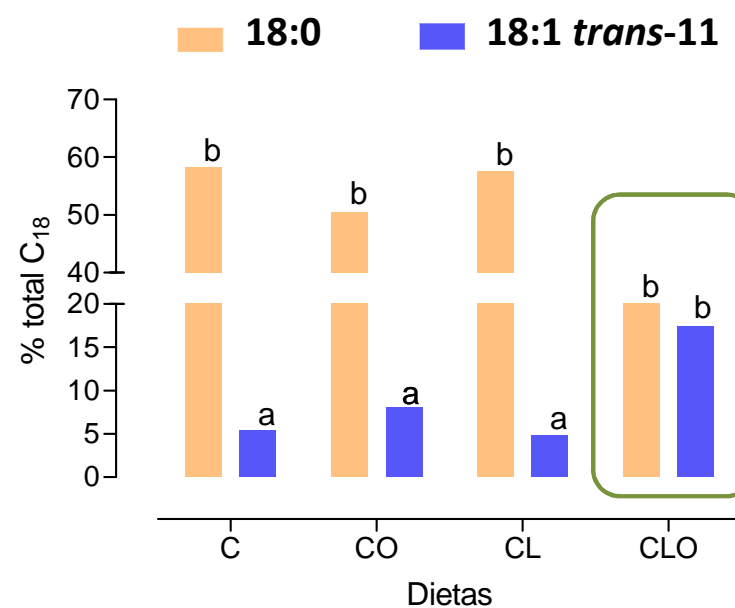
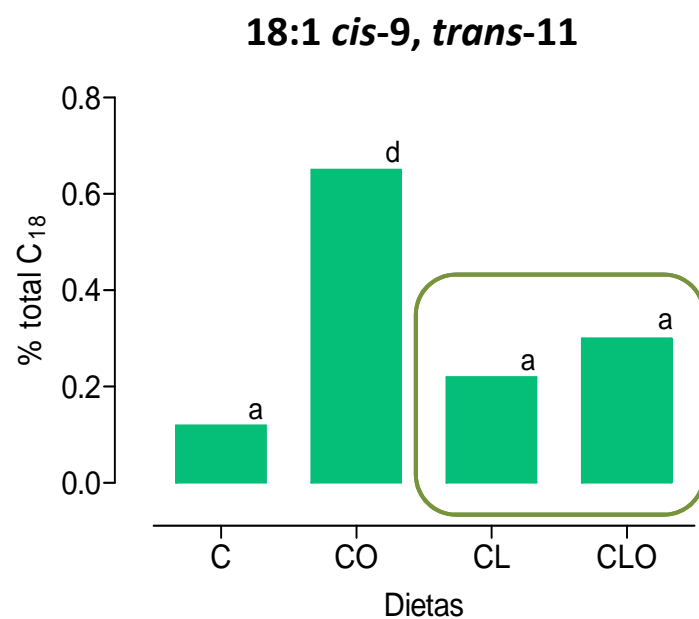


	Média	EPM
Ganho médio diário (g)	285	17,1
Consumo médio diário (g MS)	1584	105,4
Índice de Conversão	5,58	0,416
Peso vivo ao abate (kg)	36,7	2,00

in Jerónimo et al., Journal of Agricultural and Food Chemistry (2010) 58, 10710-10721



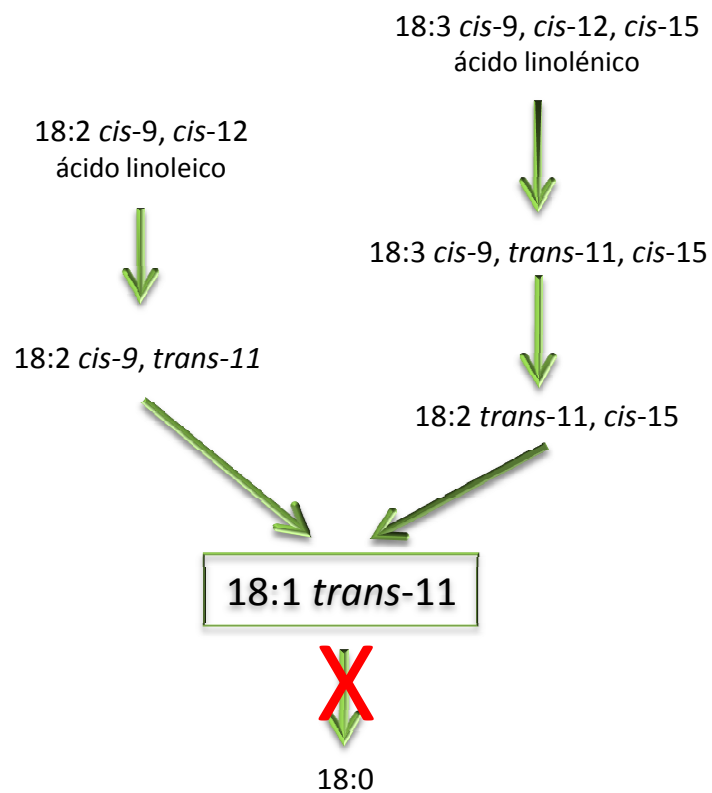
■ Ácidos gordos - Conteúdo abomasal → Biohidrogenação Ruminal



in Jerónimo *et al.*, Journal of Agricultural and Food Chemistry (2010) 58, 10710-10721



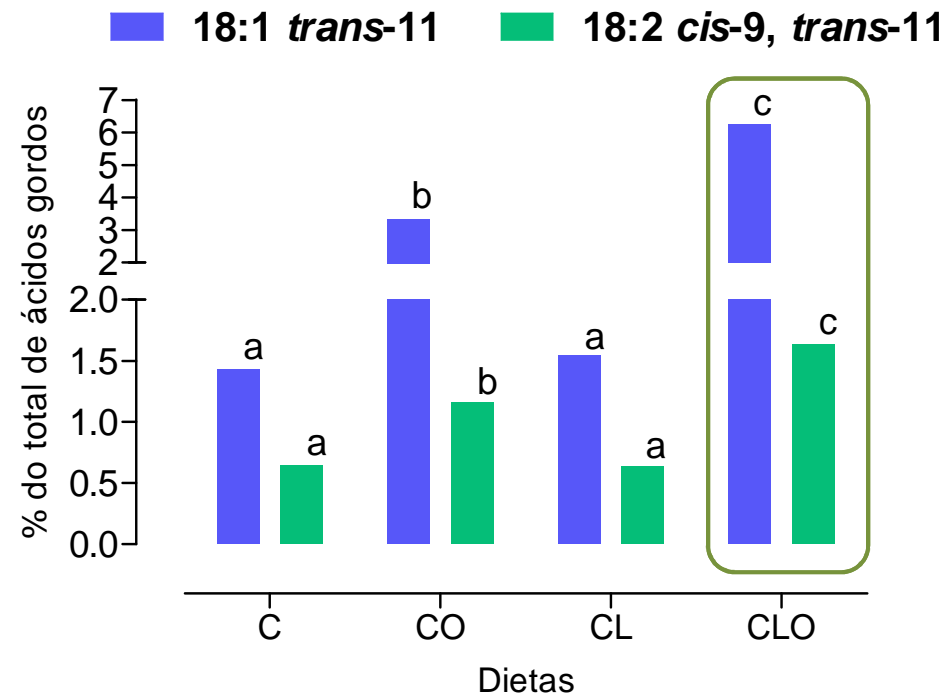
■ Ácidos gordos - Conteúdo abomasal → Biohidrogenação Ruminal



in Jerónimo *et al.*, Journal of Agricultural and Food Chemistry (2010) 58, 10710-10721



■ Ácidos gordos – Gordura Intramuscular

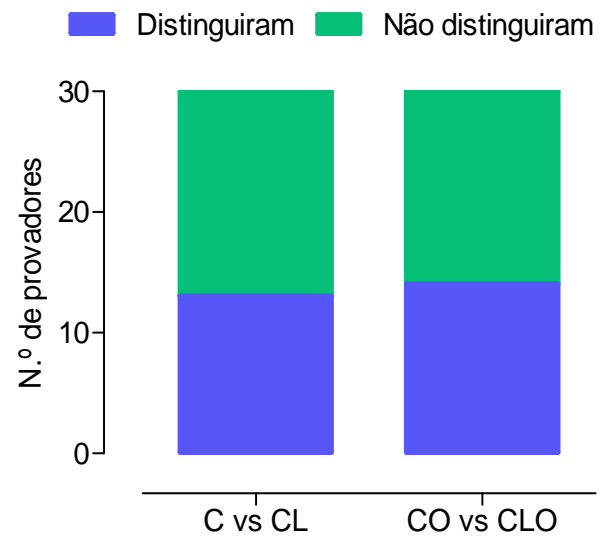


in Jerónimo *et al.*, Journal of Agricultural and Food Chemistry (2010) 58, 10710-10721



■ Análise sensorial

■ Teste triangular

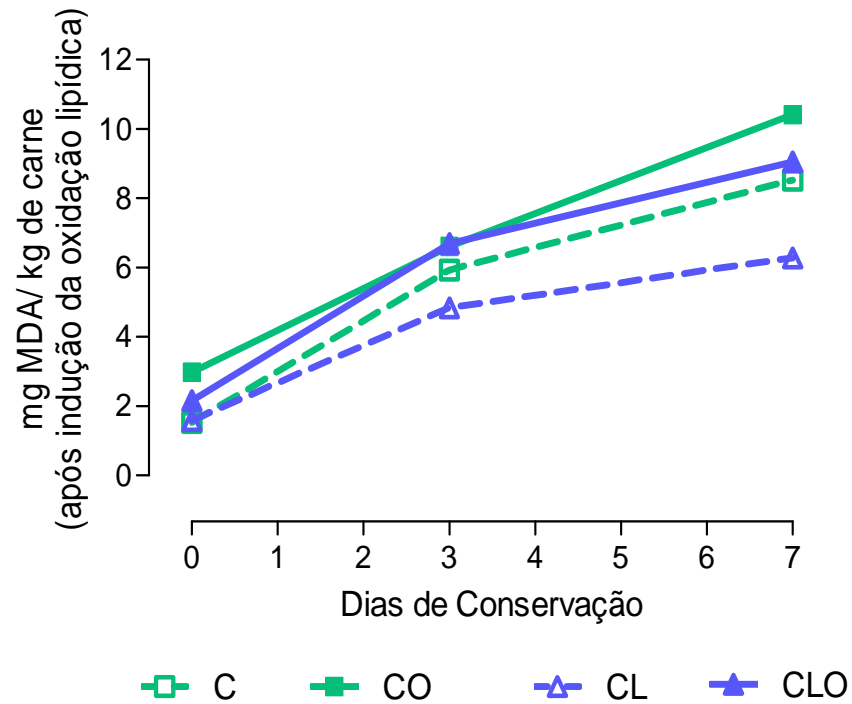


in Jerónimo et al., 2011. Meat Science, Submetido.



■ Capacidade antioxidante da carne

■ Conservação durante 0, 3 e 7 dias a 2 °C



in Jerónimo et al., 2011. Meat Science, Submetido.



■ Conclusão

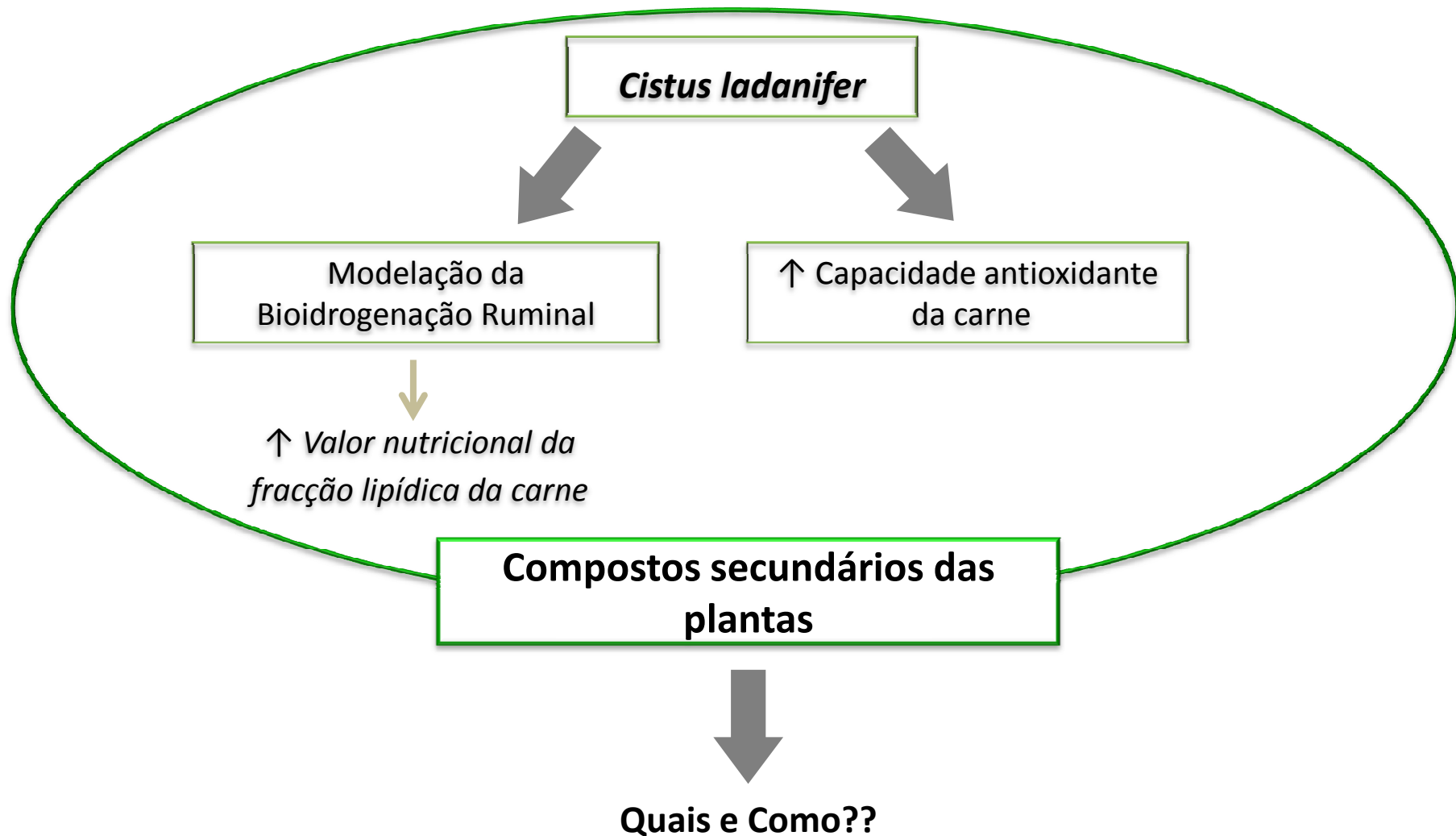
Inclusão de esteva em dietas suplementadas com óleos vegetais ricos em ácidos gordos polinsaturados



melhorar o valor nutricional da fracção lipídica da carne de ruminantes e aumentar o seu potencial antioxidante

sem comprometer as propriedades sensoriais da carne e o desempenho produtivo dos animais





*Cistus
ladanifer*



Caracterização
da
Planta



Extracção
Compostos
Secundários



Potencial
Biológico da Planta e
Compostos Secundários



Química e
actividade antioxidante



Ensaio *in vitro*
e *in vivo*



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

**Caracterização química e da actividade antioxidante
de *Cistus ladanifer* de diferentes idades ao longo do ano**

Monte do Vento, Mértola



1 ano



3 anos



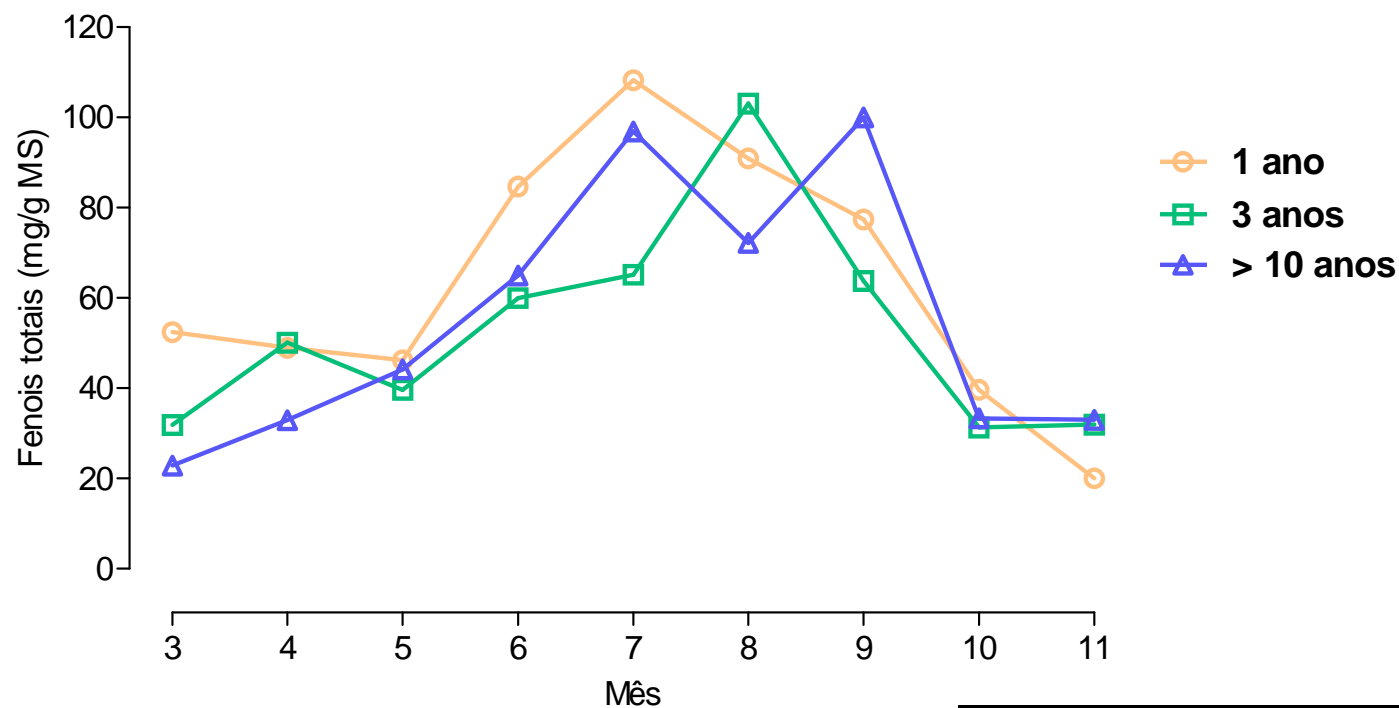
> 10 anos

Março 2011 – Fevereiro 2012



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

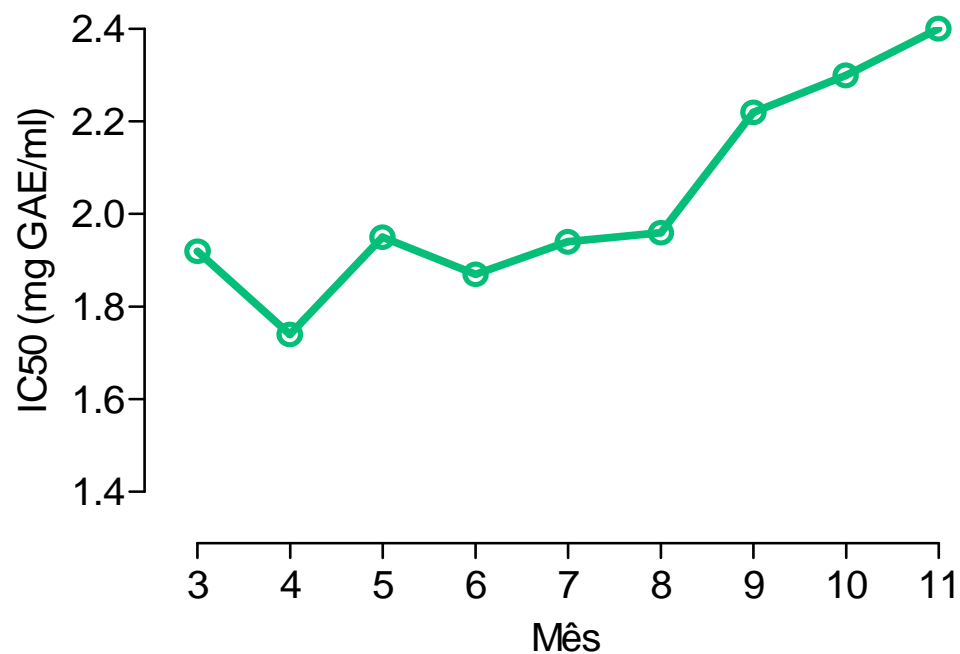
■ Fenóis Totais



Mês	Idade	Mês*Idade
<0,001	0,010	<0,001

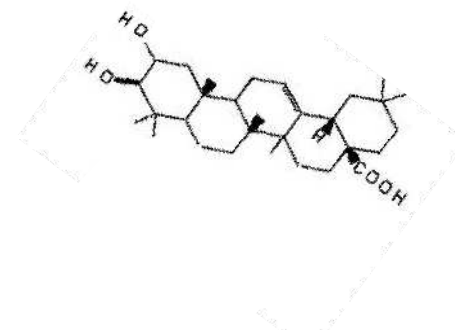
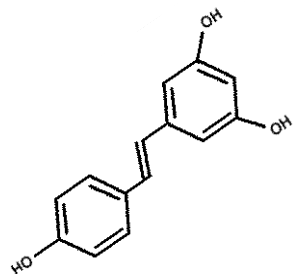


■ Actividade Antioxidante

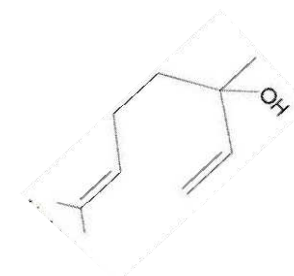
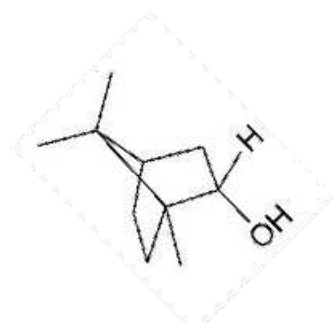


Mês	Idade	Mês*Idade
0,012	0,469	0,814





Compostos Secundários



Financiamento:



Fundo Europeu de
Desenvolvimento regional

universidade de aveiro



CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
Agricultura e Agro-Alimentar
do Baixo Alentejo e Litoral

Compostos Bioactivos:

- Fátima Duarte
- Olinda Guerreiro
- Ângela Guerra
- Zélia Velez
- Patrícia Ramos
- Laura Felício



Valorização de Agro-Alimentos:

- F. Xavier Malcata
- Eliana Jerónimo



Universidade do Minho



Genómica Agronómica:

- Sónia Gonçalves
- Ana Ferro
- Sara Valente



Centro de Biotecnologia Agrícola e
Agro-Alimentar do Baixo Alentejo e Litoral

Obrigado pela vossa atenção