



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CONSTITUINTES BIOATIVOS DA FRAMBOESA (*RUBUS IDAEUS*
L.) E OS SEUS EFEITOS BENÉFICOS PARA A SAÚDE**

Trabalho submetido por

João Pedro Martins Lourenço

para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Fevereiro de 2019



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CONSTITUINTES BIOATIVOS DA FRAMBOESA (*RUBUS IDAEUS*
L.) E OS SEUS EFEITOS BENÉFICOS PARA A SAÚDE**

Trabalho submetido por

João Pedro Martins Lourenço

para a obtenção do grau de **Mestre** em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por

Prof.^a Doutora Maria Madalena Morais Bettencourt da Câmara Correia

Fevereiro de 2019

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer à minha família. Ao meu pai Francisco e à minha mãe Conceição por todo o apoio e pelo conforto que me proporcionaram durante estes anos todos, sacrificando-se para me proporcionar um futuro melhor. À minha irmã Joana por todos os ensinamentos e batalhas que superei sempre com a sua ajuda.

Quero agradecer à minha namorada Rita, por toda a paciência que teve para comigo nunca me deixando cair nem ficar mal durante este tempo todo, mesmo quando em momentos de desespero. Quero também agradecer pela ajuda que me prestou, pelo carinho e por se orgulhar de mim em todos os momentos. Sem ela não estaria aqui.

Aos meus amigos de sempre, João Supico, Ricardo Santos, João Mendes e Gonçalo Cravo, que nunca me abandonaram ou deixaram ficar mal mesmo estando longe. Ao meu amigo João Pires, obrigado pela força e motivação que me deste nestes últimos tempos.

Este percurso também não seria possível sem os meus amigos de curso, Leonardo Matos, Rui Barros, José Rodrigues, Roberto Martins, Fábio Jesus, Joana Videira, Sara Cunha, Ana Veloso, Samuel Caraballo, que me proporcionaram os melhores momentos da vida de faculdade, vocês vão estar sempre guardados num lugar especial no meu coração.

A todos os professores que ao longo do meu percurso académico transmitiram todos os seus conhecimentos e contribuíram para a minha formação académica.

Quero agradecer também, à minha orientadora Professora Doutora Madalena, por toda a ajuda e disponibilidade prestada nesta fase.

Por fim um grande obrigado ao Instituto Universitário Egas Moniz.

Resumo

As doenças crónicas são cada vez mais a principal causa de morte por todo o mundo. Estas doenças têm vindo a aumentar exponencialmente devido a vários fatores relacionados com o estilo de vida, com a adoção de dietas energéticas pobres em micronutrientes e aos níveis de stress causados pela sociedade atual.

A framboesa é um fruto com produção recente em Portugal. Este pequeno fruto vermelho é considerado uma fonte dietética de compostos bioativos, nutrientes, como a fibra, vitamina C, ácido fólico e manganês, e não-nutrientes, sobretudo compostos fenólicos, antocianinas e elagitaninos. Esta monografia visou a identificação dos principais compostos bioativos da framboesa em artigos científicos publicados no PubMed e a pesquisa, análise e discussão dos alegados efeitos benéficos para a saúde humana para os constituintes identificados. Na discussão dos dados obtidos foram considerados os requisitos legais vigentes e as recomendações da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) para alegações de saúde sobre alimentos.

Os estudos relativos a efeitos fisiológicos benéficos de frutos de *Rubus idaeus* L. para a saúde humana (15% do total) realçam sobretudo a bioatividade de antocianinas, elagitaninos, ácido elágico e da cetona da framboesa. A atividade fisiológica potencial de constituintes da framboesa inclui efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antiproliferativos e anticancerígenos, entre outros. Estes resultados provêm sobretudo de estudos *in vitro* e em modelos animais (88% do total). No entanto, na UE estes tipos de evidências não são consideradas na comprovação científica da relação entre a ingestão do constituinte bioativo e o efeito fisiológico alegado. Os dados dos estudos de intervenção em humanos analisados (7 em 59) permitiram esclarecer apenas aspetos da biodisponibilidade das antocianinas e dos elagitaninos no organismo humano. Importa realçar que os estudos relativos à designada cetona da framboesa recorrem à cetona sintetizada quimicamente ou biossintetizada em bactérias ou leveduras geneticamente modificadas e usam teores muito superiores aos presentes na framboesa. Em suma, as evidências científicas analisadas não comprovam os potenciais efeitos fisiológicos benéficos de não nutrientes da framboesa para a saúde humana.

Palavras-chave: framboesa, antocianinas, elagitaninos, ácido elágico, cetona, benefícios para a saúde

Abstract

Chronic diseases have been increasingly the leading cause of death worldwide. These diseases have been increasing exponentially due to various lifestyle-related factors, such as the adoption of poor energy diets in micronutrients and the stress levels caused by the current society.

The raspberry is a fruit with recent production in Portugal. This small red fruit is considered a dietary source of bioactive_compounds, nutrients such as fiber, vitamin C, folic acid and manganese, and non_nutrients, mainly phenolic compounds, anthocyanins and ellagitannins. The main goal of this monography is to identify the key bioactive compounds of raspberry in scientific articles published in PubMed, following with the analyses and discussion of the alleged beneficial effects on human health for the identified constituents. In the discussion of the data obtained, the legal requirements in force and the recommendations of the European Food Safety Authority (EFSA) for food health claims, were considered.

The studies concerning beneficial physiological effects of the fruit *Rubus idaeus* L. for human health (15% of the total), especially emphasize the bioactivity of anthocyanins, ellagitannin, ellagic acid and raspberry ketone. The potential physiological activity of raspberry constituents includes antioxidant effects, anti-inflammatory, antiproliferative and Anticancer, among others. These results are mainly derived from studies *in vitro* and animal models (88% of the total). However, in the EU these types of evidence are not considered scientific proof of the relationship between the ingestion of the bioactive constituent and the alleged physiological effect. The data from the intervention studies in humans analyzed (7 in 59) allowed to clarify only aspects concerning the bioavailability of anthocyanins and ellagitannin in the human organism. It should be noted that studies relating to the so-called raspberry ketone are resorted to chemically synthesized ketone or biosynthesized ones in genetically modified bacteria or yeasts, and use levels much higher than those present in the raspberry. In short, the scientific evidence analyzed does not prove the potential beneficial physiological effects of non-nutrients from raspberry to human health.

Keywords: Raspberry, anthocyanins, ellagitannin, ellagic acid, ketone, health benefits

Índice Geral

Índice de Figuras.....	7
Índice de Tabelas	9
Índice de Gráficos	11
I. Introdução.....	13
1. Framboesa Vermelha (<i>Rubus Idaeus</i> L.).....	13
1.1. Classificação botânica	14
1.2. Aspectos morfológicos	14
2. Composição	16
2.1. Nutrientes.....	16
2.2. Não nutrientes	18
3. Avaliação de efeitos benéficos de alimentos para a saúde	23
4. Objetivos.....	25
5. Metodologia	26
II. Desenvolvimento	27
1. Identificação dos principais compostos bioativos da framboesa	27
2. Efeitos fisiológicos benéficos dos compostos bioativos da framboesa	29
2.1 Evidências de efeitos fisiológicos benéficos de Antocianinas.....	29
2.2 Evidências de efeitos fisiológicos benéficos de Elagitaninos.....	37
2.3 Evidências de efeito fisiológicos benéficos do Ácido Elágico	43
2.4. Evidências de efeitos fisiológicos benéficos da Cetona	51
III. Discussão	57
1. Antocianinas	57
2. Elagitaninos	59
3. Ácido Elágico.....	62
4. Cetona.....	64

IV. Conclusão 67

Índice de Figuras

Figura 1. Ramo de framboesa com folhas trifoliadas.	15
Figura 2. Morfologia da framboesa	15
Figura 3. Estrutura química da sanguina H6	21

Índice de Tabelas

Tabela 1. Composição nutricional da framboesa.....	17
Tabela 2. Composição fenólica da framboesa	20
Tabela 3. Estudo em animais relativos aos efeitos biológicos das antocianinas.	30
Tabela 4. Estudo em animais relativos aos efeitos biológicos das antocianinas.	31
Tabela 5. Estudos de intervenção em humanos relativos aos efeitos biológicos dos elagitaninos.....	37
Tabela 6. Estudos em animais relativos aos efeitos biológicos dos elagitaninos.	38
Tabela 7. Estudos in vitro relativos aos efeitos biológicos dos elagitaninos.....	39
Tabela 8. Estudos em animais relativos aos efeitos biológicos do ácido elágico	44
Tabela 9. Estudos in vitro relativos aos efeitos biológicos do ácido elágico padrão.....	45
Tabela 10. Estudo em humanos relativos aos efeitos biológicos da cetona.	52
Tabela 11. Estudo em animais relativos aos efeitos biológicos da cetona da framboesa vermelha.	52
Tabela 12. Estudo in vitro relativos aos efeitos biológicos da cetona padrão.	54

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Distribuição dos estudos publicados no PubMed para o descritor “red raspberry” (2000-2017)	27
Gráfico 2. Distribuição dos estudos publicados no PubMed para o descritor “red raspberry” relativos a constituintes da framboesa e a efeitos fisiológicos benéficos (2000 – 2017)	28

I. Introdução

1. Framboesa Vermelha (*Rubus Idaeus L.*)

Segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO) (WHO, 2003) o consumo regular de frutos e vegetais numa dieta equilibrada aumenta o aporte de fibra, nutrientes essenciais e fitoquímicos que melhoram a saúde e reduzem o risco de doenças crónicas.

Regra geral, as plantas contêm grandes concentrações de metabolitos secundários, nomeadamente compostos antioxidantes e enzimas com atividade antioxidante, que ajudam na proteção de danos oxidativos. Pelo contrário, nas células de origem animal a produção de antioxidantes é limitada pelo que os danos oxidativos estão envolvidos em muitas doenças (Halvorsen et al., 2006). Os antioxidantes provenientes de frutos e vegetais, como carotenoides e compostos fenólicos, podem interagir de forma benéfica nas células animais (Lindsay & Astley, 2002).

Os frutos de baga (framboesas, groselhas, morangos, amoras e mirtilos) são particularmente ricos em fitoquímicos, sobretudo compostos fenólicos e assumem um importante papel no consumo de frutos de diversos países (Bazzano, 2005).

A framboesa apresenta vários compostos considerados benéficos para a saúde humana, nutrientes como fibra, minerais e vitaminas, e não-nutrientes, sobretudo elagitaninos e antocianinas, que a distingue de outros pequenos frutos (Rao & Snyder, 2010).

A cultura e o consumo de framboesa em Portugal é recente, mas o interesse composicional deste fruto tem motivado o investimento de muitos produtores nacionais e estrangeiros. A sua produção foi implementada em 1985 no litoral alentejano, na região do Fundão e em Bragança (Santos, 2009). Atualmente estes pequenos frutos vermelhos são produzidos ao longo de todo o ano, em diversas partes do país, principalmente no Alentejo litoral (Odemira) e Algarve. Em 2016, foram produzidas 16976 toneladas de framboesa vermelha em 911 hectares. Cerca de 83% dessa produção foi exportada (GPP, 2017).

1.1. Classificação botânica

Os frutos de *Rubus idaeus* L. provêm da Ásia Menor e da América do Norte. Na Europa medieval as suas bagas eram utilizadas na alimentação, para fins medicinais e em pinturas, mas só no século XVIII o cultivo da framboesa se difundiu pela Europa (Santos, 2009).

A framboesa pertence à família *Rosaceae*, género *Rubus*. Este género é abrangente devido às diferenças encontradas nos hábitos de frutificação e divide-se em 12 subgéneros. Dentro do subgénero *Idaeobatus* encontramos várias framboesas tais como a framboesa vermelha europeia (*Rubus idaeus* subsp. *vulgatus* Arrhen), a framboesa vermelha norte americana (*Rubus idaeus* subsp. *strigosus* Michx), a framboesa preta (*Rubus occidentalis* L.) e framboesas púrpuras (*Rubus neglectus*) (Jennings, 1988).

Este estudo refere-se à framboesa vermelha que seguidamente designada de framboesa.

1.2. Aspetos morfológicos

As raízes da framboesa desenvolvem-se horizontalmente chegando aos 25 cm de solo. Estas podem formar vários caules a partir de gomos radiculares ou gomos axilares. Os caules, também denominados lançamentos, podem ser lisos ou conter acúleos e pelos e têm uma forma cilíndrica (Santos, 2009).

As folhas são trifoliadas (figura 1), contendo cinco folíolos no estado adulto (Galleta, & Himelrick, 1989).

A floração começa na flor terminal, em direção á base e em ráquis secundários vão aparecendo o resto das flores. Estas têm em média 2,5 cm de diâmetro, são hermafroditas e possuem cinco sépalas e cinco pétalas (Heide & Sønsteby, 2011).

O número de flores varia entre 3 a 75 por conjunto (Barreiro, 2015). As pétalas têm uma cor branca e são normalmente pequenas, podem também aparecer com uma cor rosa ou vermelha. Sobre o recetáculo estão os carpelos (cerca de 100 por flor) envolvidos por estames (aproximadamente 90) em anel inseridos no cálice. O formato e tamanho do recetáculo é o que vai delimitar a estrutura do fruto (Oliveira, Valdivieso, Esteves, Mota, & Fonseca, 2007).

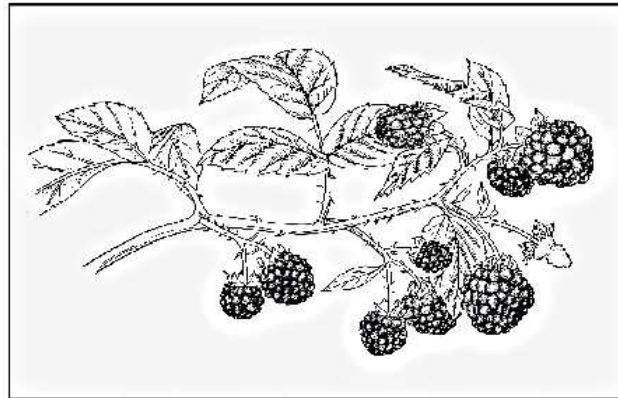


Figura 1. Ramo de framboesa com folhas trifoliadas
 Fonte: Adaptado de Galleta, & Himelrick (1989).

O fruto é por si um múltiplo de pequenas drupas (drupéolas) redondas que se encontram unidas rodeando o receptáculo cônico comum. No final da maturação, este fruto vai apresentar uma forma cônica redonda e cada drupéola contém uma semente de consistência dura envolvida pela polpa (Figura 2) (Souza, 2007).

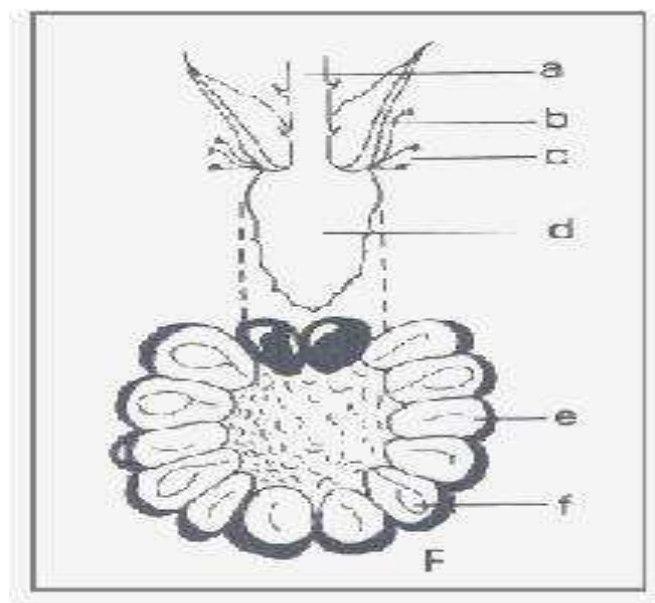


Figura 2. Morfologia da framboesa
 Legenda: a-Pedúnculo; b-Cálice; c-Anteras secas; d-
 Receptáculo; e-Drupéola; f-Semente
 Fonte: Adaptado de P.B. Oliveira et al., (2007)

As framboesas podem atingir os 20 mm de diâmetro, o seu sabor é doce com uma acidez suave e têm um aroma agridoce característico (Raseira, Gonçalves, Trevisa, & Antunes, 2004).

2. Composição

A framboesa é um fruto que apresenta constituintes particulares, nomeadamente polifenóis com benefícios para a saúde humana, que o distingue de outros frutos e vegetais (Beattie, Crozier, & Duthie, 2005).

A qualidade e concentração dos fitoquímicos da framboesa varia com diversos fatores, nomeadamente depende dos cultivares, condições ambientais e do estado de maturação dos frutos (Souza, 2007)(Souza, 2007)(Souza, 2007)(Souza, 2007)(Souza, 2007)(Oliveira et al., 2007; Souza, 2007).

2.1. Nutrientes

As framboesas são frutos pouco energéticos e nutricionalmente densos, constituídos principalmente por água, fibra, hidratos de carbono, ácidos orgânicos, proteínas e lípidos (Tabela 1) (INSA, 2014).

Dada a sua composição, a framboesa pode ser considerada um fruto diurético (Rao & Snyder, 2010). O seu valor energético (49kcal/100g de parte edível) provém sobretudo de hidratos de carbono, essencialmente açúcares: frutose, glucose e sacarose (2,35%, 1,86% e 0,20%, respetivamente (Mikulic-Petkovsek, Schmitzer, Slatnar, Stampar, & Veberic, 2012).

Os hidratos de carbono são constituintes indispensáveis na framboesa, são estes que atribuem o sabor doce na maioria das frutas (Rao & Snyder, 2010). A frutose é o principal hidrato de carbono presente na framboesa, sendo que este é o responsável pela variação do teor de hidratos de carbono deste fruto. A frutose é considerada um açúcar simples e a sua fórmula química ($C_6H_{12}O_6$) é igual à da glucose. Apenas existe uma variação pela presença de um grupo cetónico na posição 2 da cadeia carbonada (Hanover & White, 1993).

Tabela 1. Composição nutricional da framboesa

Adaptada do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) (INSA, 2014).

Constituinte	por 100 g de parte edível (%VRN)
Água (g)	84,3
Hidratos de carbono (g)	5,1
Lípidos (g)	0,6
Proteínas (g)	0,9
Ácidos orgânicos (g)	1,9
Fibra (g)	6,7
Cinza (g)	0,54
Vitaminas	
Vitamina C (mg)	30 (37,5 %)*
Folatos (µg)	33 (16,5%)*
Vitamina A Total (µg) (equivalentes de retinol)	2
Caroteno (µg)	10
Alfa tocoferol (mg)	0,2
Tiamina (mg)	0,03
Riboflavina (mg)	0,02
Niacina (mg)	0,6
Triptofano/60 (mg)	0,2
Vitamina B6 (mg)	0,5
Minerais	
Sódio (mg)	1
Potássio (mg)	230
Cálcio (mg)	26
Fosforo (mg)	23
Magnésio (mg)	20
Ferro (mg)	0,5
Zinco (mg)	0,3
Manganês (mg)**	0.67(33,5%)**

VRN – Valor de referência do nutriente (Anexo XIII do Regulamento nº1169/2011) (UE, 2011);*quantidade significativa (Anexo XIII do Regulamento nº 1169/2011) (UE, 2011);
** Tabela francesa de composição de Alimentos CIQUAL (ANSES, 2017).

A framboesa é uma fonte de fibra, pois tem mais de 6g/100g de fibra (EU ,2006). As vitaminas fazem parte do grupo de compostos orgânicos que variam quanto à sua estrutura química e atividade biológica. Podem ter uma ação de antioxidantes/oxidantes, mas também atuam como cofatores de enzimas em várias reações bioquímicas (Silva & Naves, 2001). A framboesa tem alto teor de vitamina C e constitui uma fonte de folatos pois a sua %VNR é, respetivamente, 37,5 % e 16,5% referência do Reg 1924/2006 (CE, 2007). A vitamina C tem, dependendo da dose, efeitos benéficos no sistema imunológico, na formação de colagénio (implicado em funções como a formação normal de óssea/cartilagens, de dentes e da pele), no metabolismo energético e na função normal do sistema nervoso (European Commission, 2019). Por outro lado, os folatos podem apresentar benefícios a nível do sistema imunológico, estão implicados na formação normal de sangue, síntese de aminoácidos, no metabolismo da homocisteína, na função normal do sistema psicológico e na redução da fadiga (European Commission, 2019).

Existem inúmeros minerais na framboesa, tais como sódio, potássio, cálcio, fosforo, ferro, zinco, magnésio e manganês. Considerando o teor médio de manganês deste fruto da Tabela Francesa de Composição de Alimentos, CIQUAL, da *Agence Nationale de Sécurité, Alimentation, Environnement, Travail* (ANSES) (0,67 mg/100 g; 33,5% do VRN) (ANSES, 2017) pode-se afirmar, segundo o explicitado no Anexo do Regulamento 1924/2006, que a framboesa é um fruto rico em manganês, (CE, 2007). Este micronutriente assume funções, cientificamente validadas, indispensáveis para a saúde humana, nomeadamente contribui para o metabolismo normal de energia, para a manutenção óssea, para a formação de tecido conector e na proteção das células do stress oxidativo (European Commission, 2019).

Considerando a sua composição nutricional podemos afirmar que este fruto deve fazer parte de uma alimentação saudável.

2.2. Não nutrientes

Existem cada vez mais estudos científicos relativos aos pequenos frutos como a framboesa, isto deve-se sobretudo, ao interesse que os seus compostos bioativos naturais

apresentam. A framboesa apresenta diversos compostos fenólicos, sendo estes considerados o maior grupo de fitoquímicos presentes (Beattie et al., 2005).

Os compostos fenólicos são produzidos pelas plantas tanto de forma normal como em resposta a um *stress*. Estes fitoquímicos são fundamentais para o seu desenvolvimento pois atuam na pigmentação dos frutos, como antioxidantes, como substâncias atrativas a polinizadores, na proteção de raios UV, formam complexos com vários metais pesados e em funções antimicrobianas e antifúngicas (Naczk & Shahidi, 2006; Rao & Snyder, 2010).

A estrutura dos compostos fenólicos é caracterizada por ter um ou mais anéis aromáticos de seis carbonos e um ou dois grupos hidroxilos. Dependendo do tipo/nível de oxidação dos anéis, os padrões de substituição de hidroxilação, a glicosidade por vários açúcares e sua conjugação para formar polímeros provoca as diferenças nas classes dos compostos fenólicos. Existem 4 classes principais: flavonoides, ácidos fenólicos, linhamos e taninos (Lutz, 2016).

Os frutos de *Rubus idaeus* L. têm principalmente antocianinas e taninos hidrolisáveis. Dentro das antocianinas existe um largo espectro onde encontramos: cianidina-3-soforósido, cianidina-3-(2-glucosil) rutinósido e cianidina-3-glucósido, maioritárias, e cianidina-3-rutinósido, cianidina-3-(2-xilosil) rutinósido, pelargonidina-3-soforósido, pelargonidina-3-(2-glucosil) rutinósido, pelargonidina-3-glucósido e pelargonidina-3-rutinósido em menor quantidade. Os elagitaninos da framboesa incluem sobretudo a sanguina H-6, a sanguina H-10 e a lambertianina C. Para além destes compostos fenólicos a framboesa apresenta quantidades diminutas de conjugados de flavonoides à base de quercetina e canferol (quercetina-3-glucurónido e quercetina-3-glucósido (Figueira et al., 2016) e conjugados de ácido elágico (Tabela 2).

Tabela 2. Composição fenólica da framboesa

Fonte: Adaptado de González-Barrio, Borges, Mullen, & Crozier (2010).

Compostos Fenólicos	µmol/100 g
Cianidina-3-soforósido	37,7
Cianidina-3-(2-glucosil rutinósido)	15
Cianidina-3-glucósido	9
Pelargonina-3-soforósido	1.3
Cianidina-3-(2-xilosilrutinosido)	0.47
Cianidina-3-rutinósido	3.7
Pelargonina-3-glucosilrutinosido	0.77
Pelargonina-3-glucósido	0.27
Pelargonina-3-rutinósido	0.17
Total de antocianinas:	68
Sanguina H-10	3.17
Sanguina H-6	33.3
Lambertianina C	4.3
Total de elagitaninos:	41
Ácido elágico pentósido	3
Ácido elágico	2.6
Total de ácido elágico:	5.7

Os elagitaninos constituem uma classe complexa de polifenóis. Estes taninos hidrolisáveis são caracterizados pela existência de pelo menos um grupo hexahidrofenoil esterificado com uma molécula de açúcar, esta molécula normalmente é a glucose, ou a outros compostos polihidroxilados. Os elagitaninos são geralmente lábeis quando são sujeitos a reações de hidrólise e polimerização. Na hidrólise com ácidos ou bases as ligações a ésteres são hidrolisadas e o grupo hexahidrofenoil reorganiza-se automaticamente em ácido elágico que tem uma baixa solubilidade em água (Bakkalbasi, Mentis, & Artik, 2009) .

Existem numerosos derivados de ácido elágico presentes em plantas formados através de metilação, glicosilação e metilação dos seus grupos hidroxilos. A solubilidade, mobilidade e reatividade destes compostos é diferente entre plantas e animais (Bakkalbasi et al., 2009).

Em termos quantitativos, os elagitaninos são os principais compostos fenólicos da framboesa correspondendo a um teor de ácido elágico entre 38 mg a 270 mg/100g, de acordo com Howard et al. (2010).

Segundo Mullen, Stewart, et al., (2002), a sanguiina H-6 (C₂₈H₅₄O₅₂; 4 grupos hexahidrofenoil, 2 unidades glucosil e 2 unidades galhoil) é o elagitanino maioritário deste pequeno fruto (Figura 3).

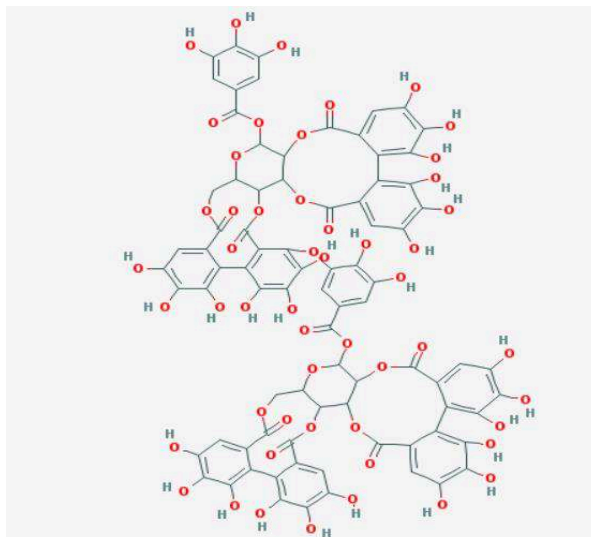


Figura 3. Estrutura química da sanguiina H6

Adaptado de PubChem, acessado a 03/09/2018,
disponível em:
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1618183>
[1#section=Top](#)

As antocianinas integram num importante grupo de pigmentos de plantas que são solúveis em água. São encontradas nos vacúolos como equilibradoras de outras moléculas. Nos tecidos das plantas as antocianinas produzem várias tonalidades entre as quais esta a tonalidade vermelha característica da framboesa. Esta tonalidade depende do valor de pH presente na planta. Existem glicosídeos que contêm a estrutura das antocianinas (C6-C3-C6). As formas desglicosiladas são instáveis pelo que não são facilmente encontradas na natureza. As antocianinas podem variar em alguns aspetos tais como:

- No seu esqueleto, variando o número e posições dos grupos substituintes hidroxilo e metoxilo;
- A identidade, número e posição dos açúcares no seu esqueleto;

- A extensão da acilação de açúcares e os seus agentes.

Glucose, galactose, rarnnose e arabinose são os açúcares mais regularmente encontrados nas antocianinas, usualmente na forma 3-glicosídeo ou 3,5-diglicosídeo e os seus agentes de acilação são principalmente ácidos cinâmicos (Clifford & Scalbert, 2000).

As 6 principais antocianinas das framboesas são: cianidina-3-soforósido, cianidina-3-glucosilrutinosídeo, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-rutinosídeo, pelargonina-3-soforósido e pelargonina-3-glucosilrutinosídeo (Mullen, Stewart, et al., 2002).

As proantocianidinas são oligómeros ou polímeros de flavan-3-óis onde a sua dimensão vai depender do seu grau de polimerização. Nestes taninos condensados podemos encontrar 3 anéis (A, B e C) e a sua estrutura difere de acordo com o número de grupos hidroxilo em ambos os anéis e na sua estereoquímica. A framboesa contém flavan-3-óis nas posições *cis* e *trans* e na forma monomérica e oligomérica, nomeadamente (+)-catequina e (-)-epicatequina (Prior & Gu, 2005).

Os flavonóis e os ácidos fenólicos são os compostos fenólicos minoritários da framboesa (Rao & Snyder, 2010).

A framboesa pode conter glicosídeos e glucuronídeos de quercetina (quercetina-3-glucósido e quercetina-3-glucuronídeo), os ácidos fenólicos podem ser hidroxicinâmicos (C6-C3) e hidroxibenzóicos (C6-C1) que se encontram nas formas glicosilada e esterificada (Mullen, McGinn, et al., 2002).

Dentro das classes dos diferentes fenóis presentes na framboesa, dados expressos em peso seco, verificou-se que os elagitaninos tinham 1717 mg/100g, as antocianinas 230 mg/100g e os flavonóis apenas 23 mg/100g. Numa determinação espectrofotométrica verificou-se que os elagitaninos e as antocianinas representam cerca de 51% e 31% dos fenóis totais, respetivamente, o ácido elágico 9%, as procianidinas 8% e os flavonóis apenas 1% dos fenóis totais presentes na framboesa (Howard, Castrodale, Brownmiller, & Mauromoustakos, 2010).

A framboesa também é composta por uma classe de compostos, cetonas, que lhe conferem o seu aroma característico. A cetona presente na framboesa é um fenólico aromático denominado 4-(4-hidroxifenil)-2-butanona (C₁₀H₁₂O₂; PM - 164,2g/mol) (Bredsdorff, Wedebye, Nikolov, Hallas-møller, & Pilegaard, 2015; Verlag, Honkanen, Pyysalo, & Hirvi, 1980).

Na sua biossíntese, o esqueleto C6-C4 de fenilbutanóide é sintetizado por uma via sequencial de duas principais reações que envolvem, respetivamente, as enzimas calconsintase e a stilbeno-sintase (Koeduka, Watanabe, Suzuki, Hiratake, & Yazaki, 2011). É durante a maturação da framboesa que a sua síntese pode ser detetada (Borejsza-Wysocki & Hrazdina, 1994).

A cetona da framboesa apresenta na sua estrutura um grupo hidroxilo e um anel benzoico livre, daí a sua alegada atividade endócrina (estrogenicidade) que tem suscitado o interesse de investigadores (Bredsdorff et al., 2015).

A cetona é um aroma primário das framboesas e é neste fruto que se encontra em maiores concentrações (0,00009 - 0,43 mg/100 g), embora também possa ocorrer naturalmente em outros frutos de baga, tais como amoras, mirtilos e arandos. De acordo com a base de dados 'Volatile Compounds in Food 16.6.1' a quantidade de cetona na framboesa pode variar entre 0,009 e 4,3 mg/kg (VCF, 2018).

3. Avaliação de efeitos benéficos de alimentos para a saúde

Na União Europeia (UE), os alimentos e os suplementos alimentares só podem ostentar menções relativas a benefícios de seus constituintes para a saúde humana se tais alegações forem consideradas válidas, ou seja, comprovadas cientificamente.

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 1924/2006 relativo a alegações nutricionais e de saúde sobre alimentos, alegações de saúde são quaisquer alegações que declarem, sugiram ou implique a existência de uma relação entre uma categoria de alimentos, um alimento ou um dos seus constituintes e a saúde. Este diploma considera 4 tipos fundamentais de alegações de saúde: funcionais genéricas (Art. 13.1º); novas alegações funcionais (Art.13.5º), alegações relativas à redução de um risco de doença (Artigo 14.1.aº) e ao desenvolvimento ou à saúde das crianças (Art. 14.1.bº) (CE, 2007).

As alegações de saúde devem ser verdadeiras, claras, fiáveis, compreensíveis, de uso justificado, fundamentadas cientificamente em elementos e dados relevantes, estas também devem satisfazer que no alimento, os nutrientes/não-nutrientes para qual as alegações são realizadas esta presente numa quantidade que irá produzir o efeito fisiológico alegado, numa forma biodisponível para o organismo (CE, 2007).

As alegações de saúde funcionais referem-se à ação de um nutriente/outa substância no crescimento, no desenvolvimento ou na manutenção de funções do organismo, tais como o emagrecimento, controlo de peso, redução do apetite, aumento da

sensação de saciedade, redução do valor energético do regime alimentar e psicológicas ou comportamentais (CE, 2007).

Novas alegações de saúde funcionais, alegações relativas à redução de um risco de doença e ao desenvolvimento ou à saúde das crianças carecem de autorização prévia pela Comissão Europeia, após avaliação da fundamentação científica realizada pela Autoridade Europeia de Segurança dos Alimentos (ing. EFSA) (CE, 2007).

O pedido de autorização deve satisfazer os requisitos técnicos estabelecidos no Anexo do Regulamento (CE) nº 353/2008 (CE, 2008). Concretamente:

1. O alimento e /ou os seus constituintes, nutrientes e não nutrientes, alvo da alegação, devem estar devidamente caracterizados, nomeadamente no que respeita aos métodos analíticos aplicados;
2. Os dados científicos disponíveis devem demonstrar que o efeito fisiológico alegado do alimento é benéfico para a saúde humana.
3. Dados provenientes de estudos no ser humano sobre a relação entre o consumo do alimento e o efeito alegado são indispensáveis à fundamentação científica das alegações de saúde.

Os dados científicos disponíveis devem comprovar uma relação de causa e efeito entre o consumo do alimento e o efeito alegado no ser humano (designadamente: solidez, consistência, especificidade, dose-resposta e plausibilidade biológica dessa relação). Os dados científicos identificados devem ser organizados pela seguinte ordem: dados de estudos no ser humano (estudos de intervenção, estudos observacionais e outros estudos que abordem os mecanismos através dos quais o alimento/constituintes pode dar origem ao efeito alegado, incluindo estudos de biodisponibilidade); dados de estudos não relativos ao ser humano, relativos a animais e de estudos *ex vivo* ou *in vitro*, baseados em amostras biológicas humanas ou animais, ou outros estudos não realizados no ser humano (CE, 2008).

A hierarquia da força da evidência destes dados é igualmente considerada no anexo deste diploma. Para os dados de estudos de intervenção no ser humano as provas com maior evidência científica provêm de estudos aleatórios controlados, seguidas por ordem decrescente, de provas de outros estudos aleatórios (não controlados), de provas

de estudos controlados (não aleatórios), e de provas de outros estudos de intervenção. Para estudos no ser humano observacionais a ordem decrescente de força da prova é a seguinte: estudos de coorte, estudos de caso-controlo, estudos transversais e outros estudos de observação, como os relatórios de casos. Seguidamente vêm as provas de outros estudos no ser humano que abordem os mecanismos através dos quais o alimento pode dar origem ao efeito alegado, incluindo estudos sobre a biodisponibilidade (CE, 2008).

É importante realçar que os requisitos legais das alegações na União Europeia não são aplicáveis a publicações científicas ainda que estas sejam usadas na fundamentação científica das mesmas (CE, 2007).

4. Objetivos

Dada a caracterização composicional da framboesa e considerando os critérios científicos relativos à avaliação de alegações de saúde, a elaboração desta tese teve como objetivo identificar os principais compostos bioativos da framboesa, pesquisar, analisar e discutir os alegados efeitos benéficos para a saúde humana dos constituintes estudados.

Esta monografia de revisão teve os objetivos específicos seguintes:

- Identificação dos principais compostos da framboesa com atividade biológica num motor de busca de acesso a base de dados de citações e resumos de artigos de investigação em biomedicina;
- Identificação e caracterização de forma tabelar dos principais estudos *in vivo* e *in vitro* referentes aos efeitos benéficos reportados para os constituintes identificados;
- Discussão dos resultados obtidos considerando as evidências científicas disponíveis, os critérios estabelecidos na legislação para alegações de saúde sobre alimentos e as recomendações da EFSA.

5. Metodologia

A metodologia adotada neste trabalho compreendeu a:

- Pesquisa de artigos científicos para a identificação dos principais constituintes da framboesa com atividade biológica no motor de busca PubMed. O descritivo usado foi “Red raspberry” e os critérios de exclusão foram: artigos de revisão, artigos que identificam compostos fenólicos ou outros constituintes, mas que não avaliam os efeitos biológicos dos mesmos e artigos que avaliam efeitos biológicos, mas só determinam o conteúdo em fenóis totais.
- Pesquisa de artigos científicos para a recolha de evidências para cada um dos compostos acima referidos, nos motores de busca PubMed e ScienceDirect, respeitantes aos efeitos benéficos para a saúde de cada um deles;
- Pesquisa de legislação na EUR-Lex e de orientações da EFSA no portal efsa.europa.eu.

II. Desenvolvimento

1. Identificação dos principais compostos bioativos da framboesa

A identificação dos principais estudos sobre a framboesa baseou-se, com referido na metodologia neste trabalho, numa pesquisa no motor de busca PubMed para o descritor ‘red raspberry’, até Dezembro de 2017.

O interesse relativo ao estudo da framboesa e à investigação da bioatividade de constituintes deste pequeno fruto é recente. Dos 224 estudos publicados naquela plataforma 8% foram publicados entre 1972 e 1999 e nenhum destes trabalhos investigou efeitos fisiológicos benéficos deste fruto. Os artigos resultantes desta pesquisa foram publicados sobretudo na segunda década do século XXI, principalmente nos últimos 5 anos (2013-2017; cerca de 52% do total) (Gráfico 1).

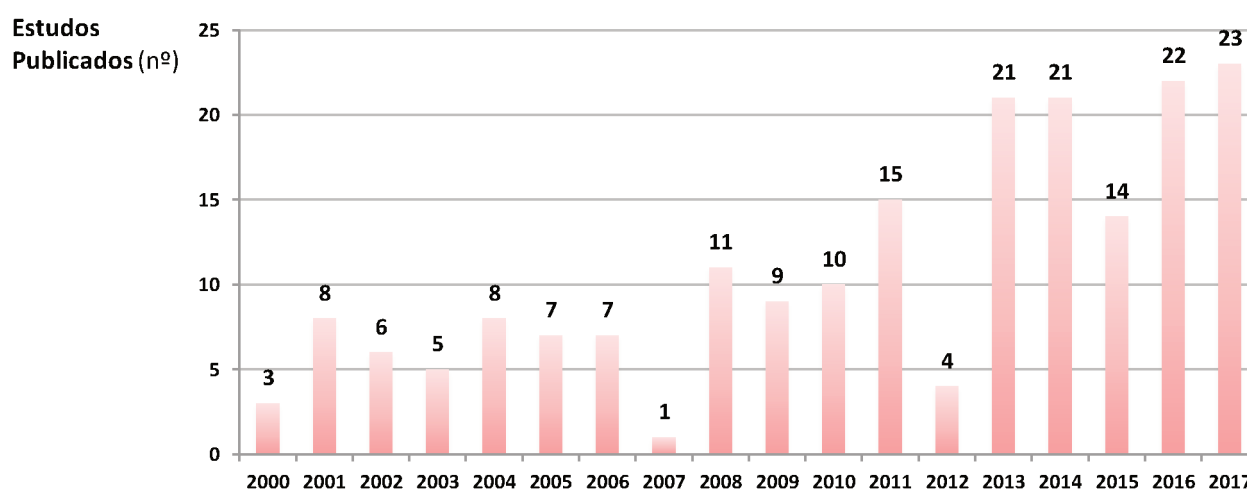


Gráfico 1. Distribuição dos estudos publicados no PubMed para o descritor “red raspberry” (2000-2017)

Aplicados os critérios de exclusão aos 224 artigos identificados para a framboesa constatou-se que apenas 34 estudos (15% do total) eram investigações relativas a efeitos benéficos de constituintes deste fruto (Gráfico 2).

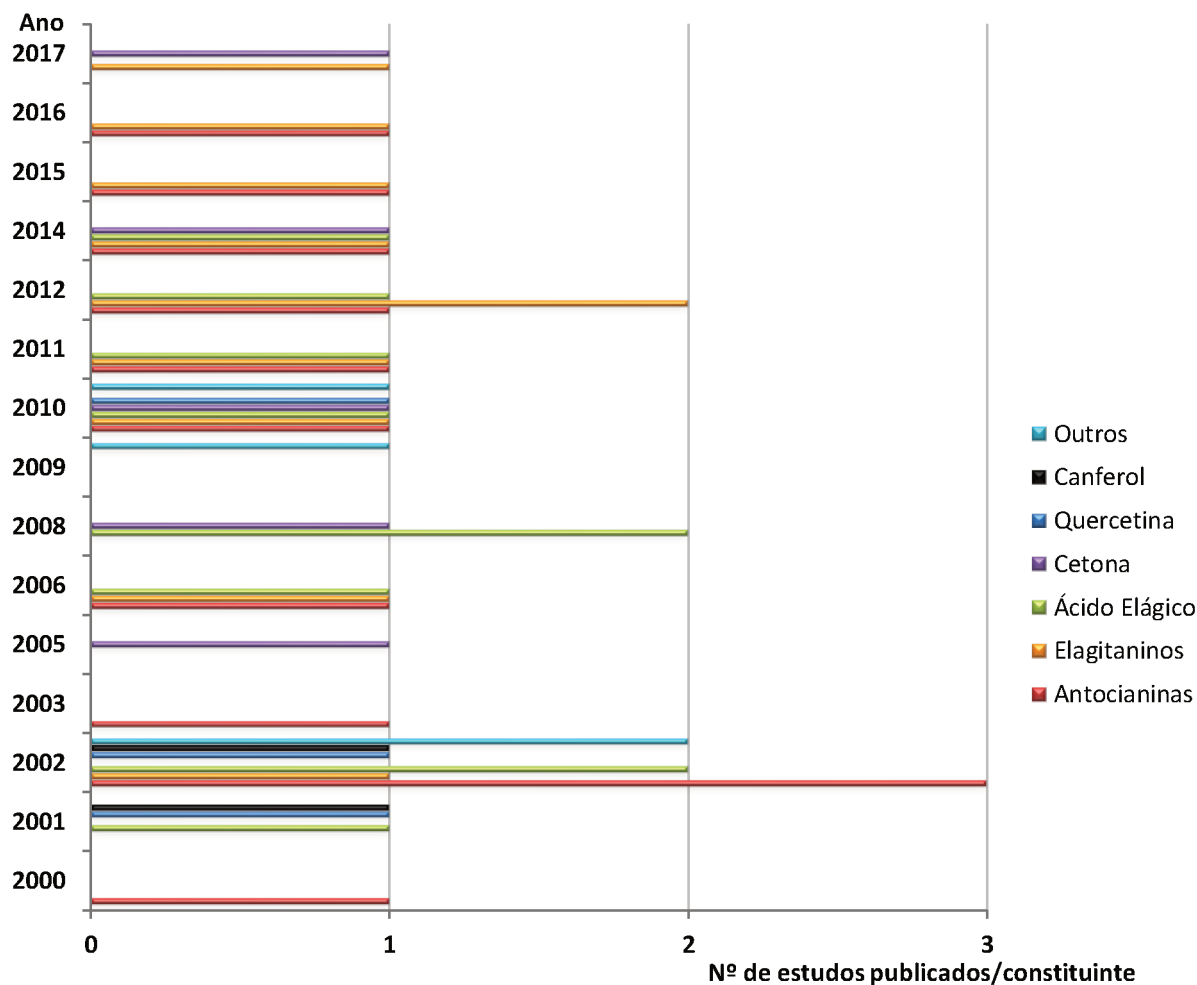


Gráfico 2. Distribuição dos estudos publicados no PubMed para o descritor “red raspberry” relativos a constituintes da framboesa e a efeitos fisiológicos benéficos (2000 – 2017)

O gráfico 2 apresenta os estudos publicados para constituintes da framboesa entre 2000 e 2017. No total apenas 34 artigos (15% do total) satisfizeram os objetivos estabelecidos para esta pesquisa: 12 artigos para antocianinas, 10 artigos para elagitaninos, 10 artigos para ácido elágico, 5 artigos para a cetona e 3 artigos para a quercetina, 2 artigos para o canferol e 4 artigos para os outros constituintes, incluindo relativos à vitamina C. Destes estudos 8 referem-se a antocianinas e a elagitaninos e 5 destes 8 também identificam ácido elágico ou seus derivados.

Subsiste uma grande diversificação dos artigos publicados pelos anos, mas existem alguns constituintes da framboesa que mantêm uma pesquisa constante ao longo dos anos, nomeadamente antocianinas e elagitaninos.

Alguns artigos não se focaram apenas num constituinte mas em vários, isto advém do uso de extratos ou do fruto em si da framboesa.

Os constituintes da framboesa, assinalados como os principais, a estudar neste trabalho foram escolhidos em função do número de artigos publicados identificando os

mesmos ou metabolitos destes e a distribuição dessas publicações no período considerado. Assim, foram então designados os principais constituintes bioativos da framboesa os seguintes compostos: antocianinas, elagitaninos, ácido elágico e a cetona.

É de salientar que os artigos dos constituintes agrupados no grupo Outros, são sobretudo artigos relativos à vitamina C da framboesa. Este constituinte não foi considerado neste trabalho por se tratar, como referido anteriormente, de um nutriente com atividades fisiológicas benéficas cientificamente comprovadas. De facto, no Registo da UE de Alegações Nutricionais e de Saúde existem 15 alegações de saúde aprovadas para esta vitamina, relativas a aspetos fisiológicos benéficos variados tais como (European Commission, 2019): a contribuição para o normal funcionamento do sistema imunitário, a formação de colagénio e a função normal das veias, ossos, cartilagem, pele e dentes; o normal funcionamento do metabolismo de energia, a função normal do sistema nervoso e psicológico; a proteção contra o stress oxidativo, e a contribuição para redução da fadiga, na regeneração da forma reduzida da vitamina E e no aumento da absorção de ferro. Note-se que, regra geral, os alimentos/suplementos alimentares que ostentem essas alegações de saúde devem, pelo menos, constituir uma fonte de vitamina C, ou seja, devem apresentar um teor de vitamina C de pelo menos 12 mg/100g (European Commission, 2019).

Seguidamente apresentam-se os resultados das pesquisas realizadas para cada um destes constituintes pela ordem de importância dos mesmos.

2. Efeitos fisiológicos benéficos dos compostos bioativos da framboesa

2.1 Evidências de efeitos fisiológicos benéficos de Antocianinas

As tabelas seguintes referem-se aos estudos relativos aos efeitos biológicos das antocianinas da framboesa.

Tabela 3. Estudos em animais relativos aos efeitos biológicos das antocianinas.

Animal usado	Tratamento	Efeito	Referências
Ratos machos, com 7 semanas (isolamento dos seus adipócitos)	100 µg de padrão de cianidina-3-glucósido e 100µg de cianidina	↑ da secreção de adiponectina; ↑ da secreção de leptina; ↑ da expressão génica de adipócitos; regulação da expressão de adiponectina no tecido adiposo branco.	Tsuda et al., (2004)
Ratos diabéticos machos KK-A, com 4 semanas	Extrato padrão rico em antocianinas, incluindo cianidina-3-glicósido durante 5 semanas	↓ da concentração de glucose no sangue; ↑ da sensibilidade á insulina; regulação positiva do transportador da glicose nos adipócitos; ↓ da formação de adipocitocinas inflamatórias.	Sasaki et al., (2007)
Ratos ateroscleróticos machos, (80g)	Extrato de vários frutos de baga (framboesa, mirtilo, morango e arando) rico em antocianinas (OptiBerry)	↓ peso (8%); falta de apetite; ↑ do metabolismo; ↓ do índice de aterosclerose (36,6%); ↓ da oxidação de lipoproteínas; inibição da transcrição basal de biomarcadores inflamatórios; ↓ do hemangioma; ↓ do crescimento celular tumoral.	Zafra-Stone, Yasmin, Bagchi & Chatterjee, (2007)
Ratos machos (≈ 277g) (estudo de biodisponibilidade)	Administração única de 2,77 ml de sumo de framboesa (cerca de 3,3 g de framboesa; 918 nmol de antocianinas/rato)	Pouca absorção antes de se atingir o íleo; quantidades substanciais passam do intestino grosso para o intestino delgado; degradação pela microflora do colon; fígado, rins e cérebro sem quaisquer vestígios.	Borges, Roowi, Rouanet, Duthie, & Lean, (2007)

Tabela 3 (cont). Estudos em animais relativos aos efeitos biológicos das antocianinas.

Animal usado	Tratamento	Efeito	Referências
Ratos machos, com 5 semanas	Suplementação da dieta com cianidina-3-glicosídeo (padrão; 0,2% m/m do total), durante 12 semanas	↓ do nível de glicose; ↑ da sensibilidade á insulina; ↓ do nível de mRNA, ↓ das concentrações séricas das citocinas inflamatórias e a infiltração de macrófagos no tecido adiposo; diminuição dos triglicéridos hepáticos; promoção e exclusão da rabdomiossarcoma.	(Guo et al., 2012)
Ratos carecas, com 6-8 semanas	20 mg/kg de frações ricas em antocianinas durante 10 dias	↓ peso; atenuação nos danos histológicos induzidos.	Li et al., (2014)
Ratos machos com colite induzida, com 6 semanas	Ingestão da dieta suplementada com framboesa (5%, m/m), durante 4 semanas	Supressão da Nf-kB; ↓ da expressão de interleucinas inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6 e IL-7), da ciclooxygenase-2 e do fator- α da necrose tumoral (TNF- α); proteção da estrutura do colon.	Bibi, Kang, Du, & Zhu, (2017)
Ratos gordos machos, com 6 semanas	Ingestão de 20 g da dieta suplementada de 2% de framboesa liofilizada (2,982 mg de antocianinas/g peso seco), durante 12 semanas	↓ triglicéridos; ↓ glicémia; menor frequência cardíaca; efeito benéfico na expressão do recetor da adiponectina e da apolipoproteína; ↓ colesterol plasmático; regulação da hemóstase dos triglicéridos.	Kirakosyan et al., (2017)

Tabela 4. Estudos in vitro relativos aos efeitos biológicos das antocianinas padrão.

Cultura celular/modelo utilizado	Tratamento	Efeito	Referências
Células do colon humano (HT29)	Extrato aquoso de cloreto de cianidina puro	↓ da viabilidade celular; ↓ do crescimento celular; proteção contra os danos causados no ADN.	Glei et al., (2003)
Adipócitos humanos	10 µM de cianidina-3-glicosideo pura e 100µM de cianidina pura por 24h	↑ da regulação da adiponectina; ↓ do plasminogénio-1; ↓ IL-6; ↓ da expressão de genes relacionados com o metabolismo lipídico (proteína desacopladora mitocondrial 2, acil-CoA oxidase e perilipina).	Tsuda, Ueno, Yoshikawa, Kojo, & Osawa, (2006)
Células cancerígenas humanas (sistema nervoso central SF-268, pulmão NCI-H460 e mama MCF-7, colon HCT-166 e gástrico AGS)	Extratos de hexano, metanólicos e etanólicos de framboesas com 314 mg de antocianinas/100 g de framboesa (dose investigada: 50, 100 e 250 µg/ml)	AAO > 50% na peroxidação lipídica (50µg/ml); inibição da atividade da ciclooxigenase (27,5-33,1%); inibição do crescimento celular cancerígeno (50%-colon, 24%-mama e 37%-estômago).	Bowen-Forbes, Zhang, & Nair, (2009)
Atividade antioxidante potencial (AAO); Poder de redução do íon ferro	30 µL de extratos de várias framboesas	AAO de cultivares selvagens > AAO de cultivares comerciais;	Çekiç & Mustafa, (2009)
AAO; do poder de redução do íon ferro e pela captação de radicais livres da atividade da 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo	3g de amostras de fruto previamente tratadas e purificadas	AAO ↑ com o teor de compostos fenóis e com o teor em antocianinas totais	Chen, Xin, Zhang, & Yuan, (2012)

Tabela (cont.) 4. Estudos in vitro relativos aos efeitos biológicos das antocianinas padrão

Cultura celular/modelo utilizado	Tratamento	Efeito	Referências
Macrófagos ativados (RAW 264,7)	100,150 e 200 $\mu\text{g/ml}$	Supressão da síntese de óxido nítrico; redução dos níveis de ciclooxigenase-2, e das IL-1 e IL-6.	Li et al., (2014)
Hepatócitos humanos	Padrões de 21 antocianinas, incluindo antocianinas da framboesa	Do total (21 antocianinas) apenas a cianidina-3-O-ramnósido e dois glicosídeos da delphinidina inibiram significativamente os citocromos analisados (CYP2C9, CYP2A6, CYP2B6 e CYP3A4).	Srovnalova et al., (2014)
Associação de extratos de frutos de baga com nanopartículas (Ag NPs)	Extratos de frutos de baga associados a nanopartículas ($3\mu\text{g/ml}$)	Efeito antioxidante via redução da atividade da atividade da 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo; efeito anti microbial contra bactérias gram negativo (<i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella entérica</i>) e gram positivo (<i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Bacillus cereus</i>); atividade antifúngica (<i>Candida albicans</i>).	Demirbas, Yilmaz, Ildiz, Baldemir, & Ocoy, (2017)
AAO; Captação de radicais livres	Extratos liofilizados de frutos vermelhos, incluindo framboesas, enriquecidos em antocianinas (0.25 ml de 100 $\mu\text{g/ml}$)	↓ radicais livres; aprisionamento do carbonilo reativo; ↓ da glicação; efeitos microgliáis neuroprotetores.	Ma et al., (2018)

As framboesas possuem, como visto anteriormente, um perfil de polifenóis único, que é caracterizado principalmente pelas antocianinas. Estes compostos têm um significado importante na prevenção de várias doenças tais como doenças oncológicas, doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes. Os seus efeitos na saúde estão em base na sua capacidade antioxidante e anti-inflamatória.

2.1.1. Efeito antioxidante

Segundo Chen et al (2012) o potencial antioxidante das framboesas é maior quando o rácio entre a quantidade de antocianinas e a quantidade de polifenóis totais é maior também.

Já Çekiç & Mustafa (2009) compararam a atividade antioxidante de cultivares de framboesa selvagens e comerciais. Os resultados deste estudo apontaram que alguns cultivares selvagens continham maior potencial antioxidante do que os comerciais, usando o método comuns à média da capacidade antioxidante foi de 14,6 e 14,1 μmol do conteúdo total de polifenóis por mg de peso fresco.

Bowen-forbes et al (2009) analisaram *in vitro* os principais efeitos das antocianinas em apenas um estudo, os autores analisaram as propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas. Como resultados as antocianinas da framboesa demonstraram uma atividade antioxidante com valores superiores a 50% de inibição da peroxidação lipídica. No caso da atividade anti-inflamatória as antocianinas demonstraram uma moderada inibição da ciclooxigenase em cerca de 33%. Por último as antocianinas também demonstraram um poder de inibição no crescimento de células cancerígenas em vários tipos de cancro (colón-50%, mama-24%, pulmão-54% e estômago-37%).

2.1.2 Efeito anti-inflamatório

Para avaliar o efeito inflamatório Li et al (2014) utilizaram extratos de framboesa ricos em antocianinas em macrófagos. O objetivo do estudo em si era observar se estes compostos apresentavam efeitos inibitórios sobre a produção de óxido nítrico nas células em questão. As frações ricas em antocianinas suprimiram a síntese de óxido nítrico e baixaram os níveis de ciclooxigenase-2, interleucina-2 e interleucina-6b que estão implicadas nos processos de inflamação dos macrófagos. Os mesmos autores realizaram também um estudo *in vivo* utilizando ratos. Com este modelo os extratos ricos em antocianinas baixaram o peso induzido nos ratos e melhoraram o dano histológico.

Num estudo mais recente, Bibi et al (2017) induziram colite em ratos com a administração de sulfato de dextrano sódico. Os resultados foram similares ao estudo anterior em relação à redução da inflamação, mas neste estudo a suplementação demonstrou uma proteção da estrutura colónica associada à supressão da Nf-kB e à redução da expressão de interleucinas inflamatórias (1b, 6 e 7), ciclooxigenase-2 e do fator- α da necrose tumoral.

Zafra-stone et al (2007) anteriormente já tinham feito uma associação de antocianinas, mas de forma diferente. Os investigadores apenas associaram vários extratos ricos em antocianinas provenientes de diversos frutos (framboesa, mirtilo, morango e arando). Dos efeitos observados, esta junção de extratos inibiu as transcrições basais de certos biomarcadores inflamatórios tais como a interleucina-8 reduzindo assim a formação de hemangioma e diminuindo o crescimento celular de tumores. Esta associação também demonstrou ter atividade anti microbial demonstrando um potencial citotóxico contra a *Helicobacter pylori* a nível gastrointestinal. Os mesmos autores também quiseram mecanizar o seu estudo e para isso efetuaram um estudo *in vivo* utilizando hamsters. A suplementação com o extrato derivados dos frutos anteriormente referidos provocou uma perda de peso significativa (8%) causada pela falta de apetite e pelo aumento do metabolismo. O índice de aterosclerose também diminuiu em cerca de 36,6% pela redução da oxidação de lipoproteínas.

2.1.3. Efeito cardiovascular

Alguns autores também se interessaram pelos efeitos que as antocianinas produzem a nível cardiovascular, para isto, Kirakosyan et al (2017) utilizaram ratos propensos à obesidade como modelo cardiometabólico. Com o consumo da framboesa os níveis de triglicéridos e os níveis de glicemia foram reduzidos, mas não ocorreu qualquer efeito nos níveis de insulina e do peso corporal o que vai contra alguns estudos que vão ser descritos mais à frente. Através de uma ecografia também foi verificado uma redução da ampliação do ventrículo esquerdo e do espessamento da parede o que produziu nos ratos uma menor frequência cardíaca. Por fim neste estudo foi feita uma avaliação da expressão dos genes no tecido cardíaco, a framboesa demonstrou um efeito benéfico na expressão do recetor da adiponectina e da apolipoproteína que estão relacionadas com o colesterol presente no plasma e a hemóstase de triglicéridos.

2.1.4 Obesidade/Diabetes

A nível da obesidade e da resistência à insulina existem alguns estudos que indicam que as antocianinas estão relacionadas com a expressão de adipocitocinas (adiponectina e leptina), Tsuda et al (2006) basearam-se no perfil da expressão génica de adipócitos humanos, depois de uma administração de antocianinas ocorreram mudanças significativas na expressão das adipocitocinas (neste caso: um aumento na regulação da adiponectina e uma diminuição do plasminogenio-1 e da interleucina-6). No caso da expressão génica, este tratamento diminuiu a expressão de alguns genes relacionados com

o metabolismo lipídico (proteína desacopladora mitocondrial 2, acil-CoA oxidase e perilipina).

Já em estudos *in vivo* os resultados não divergiram, Tsuda et al (2004) com ratos tratados com antocianinas demonstraram um aumento da secreção de adipocitocinas e aumentaram a expressão genica dos adipócitos. Sasaki et al (2007) quiseram também averiguar os efeitos das antocianinas na doença diabetes. Durante 5 semanas foi administrado a estes ratos um extrato rico em antocianinas, nomeadamente cianidina-3-glicosídeo. Este composto reduziu significativamente a concentração de glicose no sangue aumento a sensibilidade à insulina, isto foi devido à regulação positiva do transportador da glicose nos adipócitos e pela diminuição da formação de adipocitocinas inflamatórias.

Num estudo mais recente, mas com o mesmo objetivo, Guo et al (2012) verificaram os mesmo resultados (nível de glicose melhorou significativamente e a sensibilidade à insulina aumentou), mas com este estudo a suplementação com este composto demonstrou uma redução dos níveis de mRNA, das citocinas inflamatórias, da infiltração de macrófagos no tecido adiposo e uma diminuição dos níveis de triglicéridos hepáticos.

2.1.5 Efeito nas doenças mentais

Apesar de ainda não estar bem claro o efeito das antocianinas em doenças mentais, Ma et al (2018) obtiveram resultados que podem ser permissores nos efeito benéficos das antocianinas na doença alzheimer. Apesar de ainda não existir um mecanismo concreto para estes benefícios, os investigadores descobriram que as antocianinas demonstram *in vitro* uma diminuição dos radicais livres, um aprisionamento do carbonilo reativo, a diminuição da glicação e também efeitos microgliais neuro protetores importantes para este tipo de doenças.

2.1.6 Associação das antocianinas com outros compostos

A associação de antocianinas com outros compostos/moléculas também se tornou interesse para investigação, para estudar os benefícios destas associações Demirbas et al (2017) implementaram extratos ricos em antocianinas em nanopartículas. Esta associação demonstrou ser um potente antioxidante via a redução da atividade da 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. Estes compostos juntos não tiveram apenas uma atividade antioxidante, mas também uma atividade anti microbial. As antocianinas junto com as nanopartículas atuaram sinergicamente contra bactérias Gram negativo (*Escherichia coli* e *Salmonella*

entérica), Gram positivo (*Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*) e também contra fungos (*Candida albicans*).

2.2 Evidências de efeitos fisiológicos benéficos de Elagitaninos

As tabelas seguintes referem-se aos estudos relativos aos efeitos biológicos dos elagitaninos da framboesa.

Tabela 4. Estudos de intervenção em humanos relativos aos efeitos biológicos dos elagitaninos

Tipo de estudo	Tratamento	Efeito	Referências
Estudo de Biodisponibilidade	Ingestão de 250mg morangos/framboesas/nozes e 300 ml de vinho tinto	Metabolização pela microflora intestinal, transformando os elagitaninos em urolitinas.	Cerdá, Tomás-Barberán & Espín, (2005)
Controlado aleatório	71mg de antocianinas padrão e 789mg de elagitaninos padrão durante 16 semanas	↑ da concentração de leptina; efeitos positivos na pressão arterial sistólica, LDL colesterol, parâmetro antioxidante total e resistina.	Puupponen-Pimiä et al., (2013)
Estudo de Biodisponibilidade	300g de framboesas	Hidrolise dos elagitaninos no Estômago e/ou intestino delgado.	González-Barrio, Borges, Mullen, & Crozier, (2010)
Estudo de Biodisponibilidade	Ingestão de uma dose única de sumo de 300g de framboesas	Os elagitaninos passam do intestino grosso para o intestino delgado onde são convertidos a urolitina A e B pela microflora intestinal; os metabolitos de urolitina encontram-se no sistema circulatório durante mais tempo que as antocianinas.	Ludwig et al., (2015)

Tabela 5. Estudos em animais relativos aos efeitos biológicos dos elagitaninos.

Modelo	Tratamento	Efeito	Referências
Coelhos machos, com 3,5 kg	25µl de concentrado de framboesa	Lambertianina C e a sanguina H-6 demonstraram uma potente vasodilatação/relaxamento da aorta torácica descendente	Mullen, McGinn, et al., (2002)
Porcos Ibéricos, com cerca de 10 meses e 100kg (estudo de biodisponibilidade)	Alimentos ricos em elagitaninos (±4kg por dia)	Nenhum metabolito dos elagitaninos foi encontrado acumulado em qualquer órgão (fígado, rim, cérebro e pulmões) sendo que a persistência destes metabolitos no organismo é devida á circulação enterohepática ativa.	Espin et al., (2007)
Ratos machos com artrite induzida, com 130g a 150g	Ingestão de 30/120 mg/kg de um extrato enriquecido de polifenóis da framboesa durante 30 dias	Menor incidência da artrite induzida; inibição da inflamação; menor dano na cartilagem e na reabsorção óssea.	Jean-Gilles et al., (2011)
Hamsters machos, com 60g a 80g	Equivalente ao consumo de 275ml, por um humano com 70kg, de sumo de framboesa durante 12 semanas	Inibição da produção do anião superóxido a nível cardíaco e aórtico; ↑ da atividade da glutathione-peroxidase hepática.	Suh et al., (2011)

Tabela 6. Estudos *in vitro* relativos aos efeitos biológicos dos elagitaninos.

Cultura/modelo utilizado	Tratamento	Efeito	Referências
AAO, Espectroscopia de ressonância de <i>spin</i> eletrônico	150g de extratos de framboesa	A sanguínea H-6 demostrou ser um dos principais contribuintes para a AAO.	Mullen, McGinn, et al., (2002)
Atividade de várias enzimas implicadas na diabetes	800µl de cada amostra de framboesa	Inibição da atividade da α - amílase e da α -glicosidade; diminuição da atividade da enzima conversora da angiotensina-1	Cheplick, Know, Bhowmik, & Shetty, (2006)
Células cervicais humanas cancerígenas HeLa	500 μ g de elagitaninos provenientes de um extrato de framboesas	↓ na proliferação das células cancerígenas; os elagitaninos demonstraram uma maior fração na atividade antioxidante	Ross, Mcdougall, & Stewart, (2007)
Atividade da α - amílase	50/100 μ g/ml de framboesas Mistura contendo diferentes	Inibição da α -amílase ↓ das características moleculares das células Caco-2 e células primárias	Grussu, Stewart, & McDougall, (2011)
Células tumorais do colon Caco-2	concentrações de metabolitos padrão derivados dos elagitaninos	tumorais; inibição do tamanho e número das colonosferas e inibição do aldeído desidrogenase.	Núñez- Sánchez et al., (2016)

Não existe uma informação disponível que seja relevante e correta sobre estes compostos, apenas existem algumas considerações literárias que demonstram e quantificam os elagitaninos presentes na framboesa, o que torna difícil avaliar estes compostos de forma precisa.

No entanto, deve-se notar que, *in vivo*, os efeitos sobre a saúde dos polifenóis resultam da atividade dos seus metabólitos. No caso dos elagitaninos, os principais metabólitos são os produtos da sua decomposição, ou seja, o ácido elágico e urolitina (Tomas-Barberan et al., 2008).

As elagitaninos também fazem um grande papel na nutrição humana por apresentarem diversas propriedades biológicas incluindo atividade antioxidante,

anticancerígena, anti-inflamatória e antiaterosclerótica (Bakkalbasi et al., 2009) (M.N., 2000) (Landete, 2011).

2.2.1 Efeito vasorelaxante

Para determinar a contribuição das Framboesas para a capacidade antioxidante/propriedades vaso relaxantes Mullen et al (2002) elaboraram um estudo utilizando coelhos como modelo de estudo. Para a realização deste estudo foi necessária uma preparação previa do objeto de estudo para ser possível obter resultados concretos, com isto os coelhos foram anestesiados por administração intravenosa de pentobarbitona (100mg/kg) com 1000 UI de heparina e foi lhes removida a aorta torácica. Esta foi totalmente limpa de gordura e cortada em anéis que seguidamente foram suspensos em 10ml de banho tampão Krebs mantido a 37° C para reproduzir o ambiente interno. Estes anéis foram mantidos a uma pressão ótima de 2g que foi mantida durante toda a experiência e a contração/relaxamento foi avaliada através de um transdutor de força isométrica. Depois de se atingir a estabilidade da solução foi colocado no banho 25ul de cada composto (elagitaninos, antocianinas e outros polifenóis) previamente tratados. Para determinar se estes compostos provocavam ou não vasorelaxamento a aorta retirada dos coelhos foi contraída com fenilefrina. As soluções contendo lambertianina C e sanguina H-6 foram as que demonstraram ter um maior potencial vasorelaxante.

2.2.2 Efeito anti proliferativo

Para testar os efeitos anti proliferativos da framboesa, Ross et al (2007) realizaram um estudo *in vitro* utilizando células cervicais cancerígenas retiradas de humanos, para isto foram utilizados extratos de framboesa enriquecidos em polifenóis (antocianinas e elagitaninos) mas sem a presença de ácidos orgânicos, açúcares e vitamina C). Os extratos de framboesa demonstraram uma inibição na proliferação destas células numa dose dependente baseada na viabilidade e no número destas células. Sabendo que uma desregular proliferação e uma supressão da apoptose são os mecanismos chave para a iniciação e progressão do cancro a utilização de extratos de framboesa ricos em polifenóis pode levar a uma menor proliferação de células cancerígenas.

Núñez-Sánchez et al (2016) utilizaram metabolitos da elagitaninos em vez de extratos de framboesa, também foram usadas células tumorais provenientes de tecidos removidos do cólon de pacientes com cancro colorretal. Os resultados foram obtidos através da quantificação da inibição do número e tamanho das colonosferas (células Caco-

2 e células tumorais primárias) e também da atividade do aldeído desidrogenase (marcador da quimioresistência). A mistura 1 continha principalmente urolitina-A (85% Uro-A 10% Uro-C, 5% EA) como metabolito das elagitaninas e foi a que obteve mais efetividade inibindo tanto o tamanho/número das colonosferas como a atividade da ALDH. A mistura 2 continha menos urolitina-A (30% Uro-A, 50% isoUro-A, 10% Uro-B, 5% Uro-C e 5% de ácido elágico) e apresentou alguns efeitos no número de colonosferas, mas não apresentou qualquer efeito no aldeído desidrogenase.

2.2.3. Efeito anti-inflamatório

Jean-Gilles et al (2013) focaram a sua investigação em dois estudos, no primeiro estudo (*in vitro*) utilizaram-se células basais de bovino para avaliar os efeitos dos polifenóis presentes na framboesa na degradação da cartilagem. Para isto as células foram estimuladas com 10ng/ml de interleucina-1 β para induzir a libertação de proteoglicano e colagénio tipo 2. Os dados obtidos neste estudo deduziram que os extratos de ricos em polifenóis contendo elagitaninos reduziram a degradação dos níveis de proteoglicano e colagénio tipo 2.

Já no segundo estudo, os mesmos autores utilizaram ratos induzidos com antigénios como modelo de estudo. Estes ratos foram administrados durante 30 dias com extratos de framboesa (30 e 120 mg/kg). Depois de uma injeção de *M. tuberculosis* os ratos foram administrados diariamente com as duas diferentes doses. Os ratos de controlo demonstraram uma inflamação severa, uma reabsorção óssea fraca e um dano moderado na cartilagem. Obtiveram-se valores parecidos com a administração da dose de 30mg/kg, mas com a administração de uma dose de 120mg/kg os resultados demonstraram uma inflamação leve, uma reabsorção óssea acentuada e um mínimo dano na cartilagem. O *score* clínico na dose mais elevada demonstrou uma inibição significativa da inflamação (54%) uma reabsorção óssea de 67% e uma percentagem de 67% para o dano na cartilagem.

2.2.4 Diabetes

Cheplick et al (2006) quiseram estudar os efeitos de extratos ricos em polifenóis derivados de alguns frutos como a framboesa. O objetivo deste estudo foi verificar a atividade de certas enzimas associadas à diabetes tipo 2 (α -amílase, α -glicosidade e a enzima conversora da angiotensina 1). A inibição deste tipo de enzimas pode ter efeitos benéficos no controlo desta doença pois estas enzimas catalisam a absorção de glicose a partir de polissacarídeos no intestino delgado e a sua inibição é considerada uma das

medidas efetivas para o controle da captação de glicose. Os extratos de framboesa demonstraram uma inibição eficaz da α -amílase, uma inibição de 85% para a α -glicosidade e também uma inibição de 70% da enzima conversora da angiotensina 1 (importante enzima no controlo da hipertensão).

Outro estudo realizado por Grussu et al (2011) também foi focado na doença diabetes, e os efeitos benéficos que os frutos de baga como a Framboesa podem trazer para este tipo de doença. Este estudo confirmou que extratos ricos em polifenóis conseguem inibir a α -amílase *in vitro*. Tanto as framboesas vermelhas como as amarelas foram igualmente capazes de inibir este composto, mas visto que os extratos de framboesa carecem de antocianinas concluiu-se que esta inibição era devida à presença de elagitaninos. Juntamente com a atuação das proantocianidinas o efeito pode ser potenciado pois estes compostos ligam-se a diferentes locais e assim impedem a competição tornando a inibição da α -amílase mais efetiva.

2.2.5. Aterosclerose

Para obter resultados sobre os efeitos da Framboesa na aterosclerose Suh et al (2011) utilizaram hamsters como modelo de estudo. O estudo demorou 12 semanas onde os ratos tiveram uma dieta artereogénica juntamente com 275ml de suco proveniente de vários cultivares de framboesa. O suco era composto principalmente por antocianinas e elagitaninos (218-305ug/ml e 45-72ug/ml respetivamente), no grupo de controlo foi administrada a mesma dieta, mas com água em vez de suco. Elevados LDL, triglicéridos e colesterol total são fatores de risco para a doença em questão e ambos os sucos (Cardinal, Tulameen e Glen Ample) baixaram os níveis dos triglicéridos apesar dos cultivares Cardinal e Tulameen reduzirem também o colesterol total e os LDL de forma mais efetiva. O cultivar Glen Ample foi aquele que teve mais efetividade na diminuição dos HDL. Os 3 sucos também demonstraram uma redução na produção do anião superóxido a nível cardíaco e aórtico, isto deve-se a diminuição na atividade da NADPH oxidase. O cultivar Glen Ample também demonstrou uma maior eficiência em diminuir o stress oxidativo enquanto que o Tulameen foi o cultivar mais efetivo em modular a dislipidemia.

2.2.6 Obesidade

Num estudo *in vivo* usando humanos como modelo experimental, Puupponen-Pimiä et al (2013) estudaram os efeitos benéficos das elagitaninos em voluntários que

apresentavam sintomas de doença metabólica. Para isto foram usados dois grupos, no primeiro foram administradas 300g de frutos de baga (100g de framboesas congeladas, 100g de polpa de morango e 100g de amoras congeladas) contendo 71mg de antocianinas e 789mg de elagitaninos durante 16 semanas enquanto que o grupo de controlo não continha qualquer dieta baseada em frutos de baga. A principal diferença que este estudo demonstrou foi a nível da leptina, durante as 12 semanas a concentração da leptina aumentou no grupo que estava com a dieta rica em bagas. A leptina desempenha um papel importante na regulação do consumo e gasto de energia, incluído o apetite e o metabolismo, sendo que o consumo de frutas aumenta os níveis da leptina isto poderia resultar numa ingestão alimentar mais regulada. Também houve algumas diferenças, não tao significantes, a nível da pressão arterial sistólica, LDL-colesterol no total da atividade antioxidante e nos níveis de resistina. Os ácidos gordos presentes no plasma permaneceram intatos durante a experiência o que se deve a uma exposição a uma percentagem baixa de ácidos gordos presentes nas bagas. A eletroforese por PCR das fezes também foi utilizada para analisar as populações bacterianas presentes nos dois grupos a fim de comparar a estabilidade e a diversidade bacteriana. As famílias mais importantes detetadas nas fezes foram as *Ruminococcaceae* e *Lachnospiraceae* pela sua importante atividade na proteção contra o cancro e a colite ulcerosa. Os metabolitos da elagitaninos também foram encontrados nas amostras de urina (Urolitina A, B, C e D, metil-urolitina C e D) dos indivíduos coma dieta rica em polifenóis. Nos perfis individuais das urolitinas os dados demonstraram diferenças nas variações qualitativas e quantitativas o que indica que a microflora colónica é responsável pela degradação das elagitaninos.

2.3 Evidências de efeito fisiológicos benéficos do Ácido Elágico

As tabelas seguintes referem-se aos estudos relativos aos efeitos biológicos do ácido elágico.

Tabela 7. Estudos em animais relativos aos efeitos biológicos do ácido elágico

Modelo	Tratamento	Efeito	Referências
Coelhos brancos com 4-6 semanas (1,5 kg)	Dieta regular (100g/dia) onde no grupo anterogénico foi administrado 10% de óleo de milho e 5% de colesterol. A suplementação de ácido elágico padrão foi de 1% (w/w da dieta)	↓ do stress oxidativo induzido; diminuição para 2-3% da superfície aórtica lesada; supressão dos níveis aórticos de 8-(OH); diminuição da expressão de caspase-8 e 9 e o ligando Fas.	Yu, Chang, Wu, & Chiang, (2005)
Ratos fêmeas CD-1	Dieta com 5% (m/m) de frutos de baga e 400ppm de ácido elágico	↓ da oxidação do ADN em 59%; ↑ da produção de genes envolvidos na reparação do ADN (proteína do grupo A-xeroderma, proteína de reparo ADN-ERCC5 e ADN ligase III-DNL3)	Aiyer, Vadhanam, Stoyanova, & Caprio, (2008)
Ratos macho carecas	Dieta contendo ácido elágico padrão (2-5 mg/ml)	Proteção contra a apoptose; diminuição da glutathiona, da alanina transaminase e asparatate transaminase; eficácia na AAO e cito proteção do dano induzido por stress oxidativo.	Me, Sook, Hyeon, & Ik, (2009)
Ratos machos albinos (150-200g)	5mg/kg de ácido elágico padrão durante 7 dias	Efeito quimioprotetor nos modelos celulares; ↓ do stress oxidativo; normalização da atividade das enzimas antioxidantes (glutathiona, glutathiona peroxidase, catálase e superóxido dismutase).	Bharathi & Jagadeesan, (2013)
Ratos KK-A, com 4 semanas	100mg/kg de ácido elágico padrão por 68 dias	↓ da concentração de lípidos nos adipócitos; ↓ dos níveis de resistina sem alterar a expressão de mRNA; ↑ da expressão de genes (apoa-1, Ildr, cpt1-a e ppara) no fígado melhorando assim a dislipidémia induzida pela obesidade e a esteatose.	Yoshimura, Nishii, Zaima, Moriyama, & Kawamura, (2013)

Tabela 8 (cont.). Estudos em animais relativos aos efeitos biológicos do ácido elágico

Modelo	Tratamento	Efeito	Referências
Ratos machos albinos (180-200g)	7,5-15mg/kg de ácido elágico padrão durante 10 dias	Proteção cardiovascular contra as arritmias, a hipertrofia e a necrose do miocárdio induzidas; anti-hiperlipidémia através da inibição do 3-hidroxi-3metil glutaril CoA redutase.	Kannan & Quine, (2013)
Ratos macho adultos (130-160g)	20-100mg de ácido elágico padrão durante 16 semanas	Atenuação da disfunção renal e do stress oxidativo; inibição da ativação do Nf-kB; ↓ da expressão do fator de crescimento TGF; ↓ da fibronectina; ↓ dos níveis séricos das citocinas pro-inflamatórias (IL-1 e IL-6) e do fator necrótico TNF- α .	Ahad, Ganai, Mujeeb, & Siddiqui, (2014)

Tabela 8. Estudos in vitro relativos aos efeitos biológicos do ácido elágico padrão.

Cultura celular/modelo utilizado	Tratamento	Efeito	Referências
Análise do dano no ADN	100uM	Inibição >95% da 8-oxodeoxiguanosina e de outros compostos oxidativos para o ADN	Aiyer et al., (2008)
Neuroblastoma humano SH-SY5Y	1-30uM	↓ da viabilidade das células; Indução da apoptose mediada pelo ADN; alterações no ciclo celular e na adesão celular.	Fjaeraa & Nanberg, (2008)
Hepatócitos	(não especificado)	Potente atividade antioxidante; propriedades protetivas no stress oxidativo induzido; prevenção da formação de espécies de oxigénio reativas pela vitamina K3; prevenção do dano necrótico celular; prevenção na despolarização mitocondrial.	Me et al., (2009)

Tabela 9 (cont.). Estudos in vitro relativos aos efeitos biológicos do ácido elágico padrão.

Cultura celular/modelo utilizado	Tratamento	Efeito	Referências
Quitosonas (nanopartículas)	Encapsulação de várias concentrações de ácido elágico	Benefícios na trombocitose pela sinergia entre a quitosona e o ácido elágico; ↓ no tempo de coagulação (34%).	Gopalakrishnan, Ramana, Sethuraman, & Krishnan, (2014)
Células estaminais adipogénicas humanas/células hepáticas (Huh7)	10µmol/l	Regulação da adipogénese nas células estaminais diminuindo a conversão de H-acetil CoA em ácidos gordos;	Oklaa et al., (2014)
Associação do ácido elágico com a ciclodextrina	0.302g de ácido elágico e 2,27g de ciclodextrina	↑ da atividade anti-inflamatória; proteção da desnaturação das proteínas e da lise da membrana dos eritrócitos; redução da síntese de triglicéridos e aumento da oxidação de ácidos gordos nas células hepáticas.	Bulani et al., (2015)
Avaliação da capacidade de captação de radicais	20ul	A adição de extratos ricos em ácido elágico de framboesa a purés de frutos aumentou a AAO dos mesmos.	Bobinaite et al., (2015)
Células 3T3-L1	(não especificado)	↓ da expressão de fatores de transcrição (KLF4, KLF5, Krox20 e C/EBPβ); inibição da progressão celular pela estagnação das células na fase G0/G1; Regulação dos marcadores da adiponogénese; diminuição da acumulação de gorduras;	Woo et al., (2015)

Tabela 9 (cont.). Estudos *in vitro* relativos aos efeitos biológicos do ácido elágico padrão.

Cultura celular/modelo utilizado	Tratamento	Efeito	Referências
Células endoteliais humanas e monócitos derivados de macrófagos TPH-1	10uM	↓ da adesão de monócitos THP-1 nas células provenientes do cordão umbilical; redução da secreção da molécula de adesão celular (sVCAM-1); diminuição da secreção da citocina pro-inflamatória IL-6.	Mele et al., (2016)
Células cancerígenas cervicais	Associação do ácido elágico com a curcumina em dose dependente	Melhores propriedades anticancerígenas; restauro do dano causado no ADN; atividade anti-HPV pela diminuição da oncoproteína HPV E6 nas células cervicais cancerígenas.	Kumar et al., (2016)
Hemoglobina	0,4-1uM	↓ da degradação da heme na hemoglobina; diminuição da produção de radicais reativos do oxigênio.	Valipour, Maghami, Habibi-rezaei, & Moosavi-movahedi, (2016)

Através dos resultados obtidos nas tabelas anteriormente apresentadas, existem alguns estudos que demonstram que composto apresenta efeitos benéficos devido ao seu poder antioxidante, anticancerígeno, anti-hemorragico, anti apoptose, anti-inflamatório e um efeito regulador na acumulação de gorduras que pode ter influência em doenças como a arteriosclerose, doenças cardiovasculares e na diabetes.

2.3.1. Aterosclerose

No caso da arteriosclerose, Mele et al (2016) demonstraram *in vitro*, utilizando células endoteliais humanas e macrófagos TPH-1 que o ácido elágico continha propriedades benéficas para esta doença. Com um tratamento de 10mM de ácido elágico foi observado uma redução na adesão dos monócitos às células endoteliais humanas em cerca de 29,3%. Como a interação entre o endotélio e os monócitos é dependente de

moléculas de adesão na superfície celular, os autores otimizaram o ensaio estabelecendo o tempo de duração da secreção da molécula de adesão celular induzida pela utilização de uma por 18h. A incubação com o fator de necrose tumoral causou um aumento da secreção da molécula de adesão celular que seguidamente foi reduzida pelo ácido elágico em 25,6%. Em comparação com as células que foram incubadas apenas com o TNF, o ácido elágico reduziu a excreção da interleucina-6 em 39,7%. Para determinar os efeitos do ácido elágico no colesterol, os macrófagos THP-1 foram incubados com soro hipercolesterolêmico por 24h. A administração de ácido elágico a este soro demonstrou que a diminuição do colesterol era dependente da concentração do ácido elágico (10mM – 16,9%; 5mM- 9,7%; 1mM- 4,2%).

Já num estudo *in vivo* em animais, Yu et al (2005) demonstraram que utilizando o ácido elágico ocorria uma redução do stress oxidativo e da apoptose causada pela aterosclerose induzida. As características da arteriosclerose são devidas pela formação de radicais livres, hipertrofia, cessão do crescimento celular ou morte celular, e pela oxidação de LDL. Os resultados deste estudo sugerem que o ácido elágico atuou como um forte antioxidante na redução dos radicais livres e inibiu a peroxidação lipídica. Quanto a observação do dano oxidativo causado no ADN, o ácido elágico suprimiu a expressão do ligante FAS, da caspase-8 e da caspase-9 fazendo com que não ocorresse uma apoptose celular característica da aterosclerose. Nos resultados histológicos, a superfície da aorta torácica estava coberta em cerca de 45% de lesões no grupo de coelhos sem qualquer tratamento enquanto que no grupo com o tratamento de ácido elágico apenas 2 a 3% da superfície estava lesada.

2.3.2. Efeito anticancerígeno

Para determinar os efeitos anticancerígenos do ácido elágico, Kumar et al (2016) utilizaram células cancerígenas cervicais e uma associação de ácido elágico com curcumina em doses distintas. A combinação destes dois compostos restaurou a proteína supressora do tumor que normalmente é degradada pela atividade da oncoproteína HPV E6 nas células cancerígenas cervicais. Esta restauração é devida a diminuição da expressão da oncoproteína E6 e pelo aumento no dano ao ADN que medeia a estabilização da proteína supressora do tumor. A expressão da proteína pro-apoptose Bax também foi estudada e o resultado demonstrou que a combinação destes dois compostos aumenta a expressão desta proteína facilitando a apoptose celular.

Segundo os autores Fjaeraa & Nanberg (2008), foram utilizadas culturas incubando células (neuroblastoma humano SH-SY5Y) juntamente com ácido elágico em padrão. Os resultados apontaram um deslocamento, apoptose e alterações no ciclo celular. Estes resultados estão relacionados com vários mecanismos moleculares, entre eles, a elevação da proteína reguladora da fase G1 no ciclo celular, da atividade da proteína citoplasmática 53 e capase-3, a regulação negativa da ciclina A e B1 e a regulação positiva da ciclina E.

2.3.3. Efeito Antioxidante

Para avaliar o efeito antioxidante do ácido elágico, Bharathi & Jagadeesan (2013) associaram o ácido elágico com a hesperidina e administraram esta associação a ratos pré tratados com uma dose sub-letal de cloreto de mercúrio (1,23 mg/kg) de forma a induzir dano nos rins dos mesmos. O tratamento demonstrou uma diminuição nos níveis de oxidação dos rins e normalizou a atividade de certas enzimas antioxidantes, como por exemplo a catalase superóxido dismutase.

Aiyer et al (2008) por outro lado estudaram os efeitos nos danos oxidativos endógenos ao ADN do ácido elágico. No estudo *in vitro* o ácido elágico inibiu mais de 95% de 8-oxodeoxiguanosina e outros compostos considerados oxidativos para o ADN. Já no estudo *in vivo* efetuado pelos mesmos autores a terapêutica com ácido elágico reduziu a oxidação do ADN em 48%. Esta diminuição da oxidação está relacionada com o aumento da produção de genes envolvidos na reparação do ADN (proteína complementar do grupo A-xeroderma, proteína de reparo do ADN-ERCC5 e AND ligase III- DNL3).

O ácido elágico apresenta mais mecanismos antioxidantes do que aqueles apresentados anteriormente, Me et al (2009) demonstraram que o ácido elágico é um potente antioxidante, exibindo propriedades protetivas no stress oxidativo induzido em hepatócitos. Este composto preveniu que a vitamina K3 forma-se espécies de oxigênio reativas, preveniu o dano necrótico celular e a despolarização mitocondrial *in vitro*. Os mesmos autores também realizaram um estudo *in vivo* no mesmo trabalho, com o mesmo objetivo, mas utilizando ratos induzidos com dano oxidativo no fígado (uso de concavalina). A administração de ácido elágico protegeu contra a morte celular e contra o aumento de glutatona, alanina transaminase e aspartate transaminase fazendo assim um eficaz tratamento antioxidante e uma cito proteção do dano oxidativo.

No caso dos efeitos antioxidantes do ácido elágico na hemoglobina, Valipour et al (2016) demonstraram que este composto diminuiu a degradação da heme na hemoglobina e diminuiu a produção de radicais livres de oxigénio *in vitro*.

Uma associação feita foi a junção do ácido elágico com a ciclodextrina- β , esta associação apresentou um maior poder anti-inflamatório que os compostos em separado. Isto deve-se á complexidade da ciclodextrina- β para oxidação e devido à proteção da desnaturação das proteínas e da lise da membrana dos eritrócitos (Bulani et al., 2015).

2.3.4. Efeito cardiovascular

Para avaliar os efeitos cardiovasculares do ácido elágico, Kannan & Quine (2013) utilizaram ratos onde foi administrado isoprotenerol de forma a provocar arritmias e hipertrofia. Com um pré-tratamento oral de ácido elágico foi demonstrado uma proteção contra as arritmias, a hipertrofia e a necrose do miocárdio. Esta proteção cardiovascular deveu-se ao efeito anti-hiperlipidemia do ácido elágico através da inibição do 3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA redutase e na redução dos níveis de mioglobina, Cinase-MB e dos produtos da peroxidação lipídica.

Usando o mesmo tipo de estudo, Poudyal, Waanders, Sunil K, Leigh, & Lindsay (2013) provocaram uma remodelação cardiovascular, uma função ventricular desregulada e uma intolerância á glucose nos ratos devido à dieta rica em gorduras. Através da suplementação com ácido elágico os sintomas provocados pela síndrome metabólica foram atenuados com uma normalização dos níveis proteicos de Nrf-2, Nf-kB e CPT1 tanto no fígado como no coração.

A associação do ácido elágico com outros compostos também foi um dos métodos de verificação dos seus efeitos benéficos, Gopalakrishnan et al (2014) encapsularam o ácido elágico a nanopartículas (quitosonas) de forma a atuar como agente anti-hemorrágico. A encapsulação favoreceu a trombocitose devido a sinergia entre os dois e por ambos apresentarem os mesmos alvos moleculares. A redução do tempo de coagulação com esta associação diminuiu 34%.

2.3.5. Obesidade

O efeito do ácido elágico na obesidade também é um dos fatores estudados por diversos autores, Woo et al (2015) examinaram o efeito inibitório do ácido elágico nos adipócitos 3T3-L1 durante a adiponogênese. O ácido elágico teve um efeito regulador dos marcadores da adiponogênese (receptor ativado pela proliferação do peroxissoma e pela proteína de ligação do mRNA) baixando assim a acumulação de gorduras. A

regulação destes marcadores deve-se a uma reduzida expressão de alguns fatores de transcrição como KLF4, KLF5, Krox20 e C/EBP β . O ácido elágico também demonstrou um efeito inibidor da progressão do ciclo celular estagnando as células na fase G0/G1.

Oklaa et al (2014) utilizaram células estaminais adipogénicas humanas e células hepáticas para demonstrar os efeitos do ácido elágico. A utilização deste composto regulou a adiponogénese diminuindo a conversão de H-acetil CoA em ácidos gordos nas células adipogénicas enquanto que nas células hepáticas reduziu a síntese de triglicéridos e aumentou a oxidação de ácidos gordos.

Para realçar estes efeitos na obesidade, Yoshimura et al (2013) efetuaram um estudo com o uso de ratos implementados com uma dieta rica em gorduras. A suplementação com ácido elágico melhorou o perfil lipídico diminuindo a concentração de lípidos nos adipócitos, diminuiu a esteatose hepática e reduziu os níveis de resistina sem alterar a expressão de mRNA no tecido adiposo. A utilização de ácido elágico aumentou também a expressão de genes (apoa-1, Ildr, cpt1a e ppara) no fígado melhorando a dislipidemia induzida pela obesidade e a esteatose nos ratos.

2.3.6. Diabetes

Por fim o ácido elágico também demonstrou efeitos benéficos na doença diabetes, foi administrado a ratos estreptozotocina de forma a induzir diabetes tipo 2, durante um tratamento de 16 semanas o ácido elágico atenuou a disfunção renal e o stress oxidativo. Com a utilização desta suplementação a ativação do Nf-kB foi inibida e ocorreu a diminuição da expressão do fator de crescimento TGF e da fibronectina a nível renal. Para além destes efeitos, o ácido elágico reduziu os níveis séricos de citocinas pró-inflamatórias (interleucina-1 β e interleucina-6) e do fator necrótico TNF- α atenuando assim a diabetes induzida. (Ahad et al., 2014).

2.4. Evidências de efeitos fisiológicos benéficos da Cetona

As tabelas seguintes referem-se aos estudos relativos aos efeitos biológicos da cetona da framboesa.

Tabela 9. Estudo em humanos relativos aos efeitos biológicos da cetona.

Tipo de estudo	Tratamento	Efeito	Referências
Aleatório controlado	Suplemento GS, á base de cetona, cafeina, capsaicina, gengibre e Citrus aurantium	Diferenças: peso corporal (GS - 2,0% vs. Placebo -0.5%); massa gorda (GS-7,8% vs. Placebo - 2.8%); massa magra (GS +3.4% vs. Placebo +0.8%); circunferência da cintura (GS -2,0% vs. Placebo - 0.2%); circunferência do quadril (GS -1.7% vs. Placebo -0.4%) e níveis de energia medidos por uma escala visual analógica (GS +29.3% vs. Placebo +5.1%); aumento dos níveis de leptina; diminuição dos níveis de resistina sérica.	Lopez et al., (2013)
Controlado não aleatório	125/250 mg de cetona durante 3 semanas	↓ peso corporal; ↓ da massa gorda.	Pagani & Thistlethwaite, (2015)

Tabela 10. Estudo em animais relativos aos efeitos biológicos da cetona da framboesa vermelha.

Modelo utilizado	Tratamento	Efeito	Referências
Ratos machos, com 4 semanas	0,5-2% de cetona por 100g de dieta	Prevenção ativa na acumulação de gorduras no fígado e no tecido adiposo visceral; aumento da lipólise da norepinefrina associada com a translocação da hormona sensível á lípase do citosol para as gotículas lipídicas nas células do tecido adiposo.	Morimoto, Satoh, Hara, & Inoue, (2004)

Tabela (cont.) 11. Estudo em animais relativos aos efeitos biológicos da cetona da framboesa vermelha.

Modelo utilizado	Tratamento	Efeito	Referências
Ratos machos e fêmea (80-100g)	0,5,- 2% de dieta rica em cetona padrão durante 8 semanas	Proteção do fígado; redução da gordura acumulada; redução da degeneração das células do fígado gordo; diminuição da inflamação; correção da dislipidemia pela reversão e resistência á leptina; aumento da atividade antioxidante.	Wang, Meng, & Zhang, (2012)
Ratos machos com 8 semanas	Suplemento alimentar com cetona, 3% (w/w)	↓ do peso acumulado; diminuição do tecido adiposo abdominal; ↓ do tamanho dos adipócitos; reversão dos níveis de lípidos no sangue; ↓ dos triglicéridos e do colesterol no sangue; atenuação da esteatose hepática.	Kim, Kyung, Kim, Choi, & Bang, (2012)
Ratos machos com 6 semanas	Produtos derivado da framboesa ricos em cetona padrão e ácido elágico durante padrão durante 1 semana	↓ do peso corporal; diminuição dos níveis de resistina; ↓ da acumulação de lípidos vesiculares.	Luo, Adamson, Sasaki, & Shay, (2016)
Ratos fêmeas com 8 semanas	160mg/kg de cetona padrão durante 8 semanas	↓ do peso corporal; ↓ do apetite; ↓ do tecido adiposo; ↓ do tamanho dos adipócitos; ↑ das proteínas específicas do tecido adiposo castanho; ↓ das enzimas autofágicas.	(Leu et al., 2018)

Tabela 11. Estudo in vitro relativos aos efeitos biológicos da cetona padrão.

Cultura celular/modelo utilizado	Tratamento	Efeito	Referências
Adipócitos 3T3-L	10µM	↑ da expressão e secreção de adiponectina; ↑da expressão e secreção de adipocitocinas; ↑ da oxidação dos ácidos gordos; supressão da acumulação de lípidos nos adipócitos.	(Park, 2009)
Adipócitos 3T3-L1	100 µM	Indução da formação do tecido adiposo castanho; ↑ da biossíntese de mitocôndrias; expressão específica de proteínas e enzimas lipídicas fundamentais na formação do tecido adiposo castanho; ↓ da expressão da proteína autofágica Atg12; ↑da expressão da heme oxigenase-1.	(Leu et al., 2018)

As cetonas de framboesa atraíram a atenção dos investigadores, pelo seu potencial de ajudar as pessoas a perder peso. O objetivo da pesquisa, de acordo com os autores, foi derivado do reconhecimento de semelhanças estruturais com a capsaicina e sinefrina, compostos conhecidos por exercer ações anti obesidade e alterar o metabolismo lipídico.

2.4.1. Obesidade

Pela literatura referenciada nesta monografia, a cetona da framboesa vai de acordo com os ideais acima referidos. Em humanos Lopez et al (2013) efetuaram um estudo randomizado utilizando um suplemento, para a perda de peso, contendo principalmente a cetona das framboesa como constituinte, durante 8 semanas. Foram utilizados 70 indivíduos (mulheres e homens) considerados obesos, mas sem qualquer outro historial de doença. Para isto foram divididos em dois grupos: placebo e grupo com a suplementação (GS). Dos 45 indivíduos que concluíram o estudo foram observadas diferenças significativas em:

- Peso corporal (GS -2,0% vs. Placebo -0,5%)
- Massa gorda (GS -7,8% vs. Placebo -2,8%)

- Massa magra (GS +3,4% vs. Placebo +0,8%)
- Circunferência da cintura (GS -2,0% vs. Placebo -0,2%)
- Circunferência do quadril (GS -1,7% vs. Placebo -0,4%)
- Níveis de energia, medidos por uma escala visual analógica (GS +29,3% vs. Placebo +5,1%)

Durante as primeiras 4 semanas os níveis de leptina sérica estavam aumentados enquanto que os níveis de resistina sérica estavam diminuídos no grupo GS em comparação com o placebo.

Num estudo mais recente, em vez de se utilizar indivíduos obesos foram utilizados voluntários saudáveis e atléticos com idades compreendidas entre 20 e 22 anos, também como objetivo de relatar os efeitos da cetona na composição corporal dos mesmos durante 3 semanas. Os voluntários foram divididos em 3 grupos: 1) placebo 2) tratamento usando 125 mg de cetona e 3) tratamento usando 250 mg de cetona. A influência da suplementação foi principalmente observada no grupo com a alta concentração de cetona (250 mg), onde houve uma diminuição de 0,58% da massa gorda corporal, enquanto que o grupo com o tratamento de 125 mg apenas demonstrou uma diminuição de 0,38% da massa gorda comparando com o grupo de controlo. Neste estudo em comparação com o anterior, não foram obtidos resultados tão significativos, talvez por se tratarem que indivíduos saudáveis e não indivíduos obesos. Mesmo assim a cetona da framboesa demonstrou um efeito positivo em diminuir a massa gorda corporal (Pagani & Thistlethwaite, 2015).

Mais autores quiseram determinar e explicar os efeitos benéficos da cetona da framboesa na obesidade. Morimoto et al (2004) quiseram perceber se este composto ajudava a prevenir a obesidade ativando o metabolismo lipídico em ratos. A administração de cetona demonstrou uma prevenção ativa na acumulação de gorduras no fígado e no tecido adiposo visceral. Estes efeitos foram devidos a uma diminuição da concentração de triacilglicerol hepático, e um aumento da lipólise da norepinefrina associada com a translocação da hormona sensível á lípase do citosol para as gotículas lipídicas nas células do tecido adiposo

Luo et al (2016) por outro lado, utilizaram produtos derivados da framboesa ricos em ácido elágico e cetona. Passado o período de dieta os ratos aos quais foi administrado 45% de gordura apresentaram um maior peso corporal (aumento de 18g). Com a adição

dos suplementos de framboesa o peso corporal diminuiu para um equivalente aquele dos ratos com uma dieta de 10% de gorduras. No caso do marcador sérico da insulina (resistina), o consumo destes compostos fez diminuir significativamente estes níveis de resistina. A avaliação qualitativa dos tecidos demonstrou também diferenças positivas a nível da acumulação de lípidos vesiculares (redução da acumulação de lípidos).

Com a mesma finalidade de pesquisa, Kim et al (2012) tiveram resultados que foram de acordo com os anteriores descritos. Neste estudo o aumento de peso ganho pela dieta hiperlipídica foi significativamente reduzido pela suplementação onde a diminuição do peso do tecido adiposo abdominal e a diminuição do tamanho dos adipócitos foi confirmado por um exame microscópico. A alimentação a longo prazo da dieta hiperlipídica aumentou os níveis de triglicéridos e de colesterol no sangue levando á acumulação de lípidos hepáticos, contudo, a suplementação reverteu os níveis de lípidos no sangue e atenuou a esteatose hepática.

Para perceber os efeitos da cetona da framboesa *in vitro*, Park (2009) utilizaram este composto em adipócitos 3T3-L. Através de um ensaio imunológico foi demonstrado que a cetona aumenta a expressão e secreção de adiponectina e adipocitoquina presente no tecido adiposo. Com este tratamento também foi observado um aumento da oxidação dos ácidos gordos e uma supressão da acumulação de lípidos nos adipócitos.

2.4.2 Efeito no metabolismo

Para além dos efeitos observados na obesidade a cetona da framboesa também demonstrou outros efeitos com uma importância significativa na saúde. Wang et al (2012) verificaram uma proteção do fígado e uma redução da gordura nos ratos. Isto deve-se a vários fatores como a redução da degeneração das células do fígado gordo, pela diminuição da inflamação, pela correção da dislipidemia, á reversão da leptina e resistência á leptina e pelo aumento da atividade antioxidante o que demonstra que este composto também pode atuar para além dos efeitos verificados na obesidade, mesmo estado relacionado com a obesidade a cetona demonstrou propriedades antioxidantes e anti inflamatórias que podem ser utilizadas noutras doenças.

III. Discussão

1. Antocianinas

As antocianinas da framboesa encontram-se atualmente bem definidas, existem diversos estudos com o objetivo de quantificar o total de compostos fenólicos, nomeadamente as antocianinas, da framboesa. Chen et al (2012) para além de quantificarem as antocianinas presentes na framboesa, também chegaram à conclusão que quanto maior o rácio entre as antocianinas e os polifenóis totais maior o poder antioxidante. Noutro estudo, Çekiç & Mustafa (2009) antes já tinham quantificado as antocianinas presentes na framboesa e chegaram à conclusão que o poder antioxidante era maior em cultivares selvagens do que nos comerciais pela maior quantidade de antocianinas presentes.

O fruto da framboesa na sua composição tal como visto anteriormente, apresenta uma quantidade de antocianinas totais de $68\mu\text{mol}/100\text{g}$, um valor que pela análise dos estudos não foi utilizado na sua totalidade, isto é, os autores para obterem resultados sobre este composto não utilizaram a quantidade certa de antocianinas presente na framboesa, utilizaram ou um padrão ou então utilizaram extratos com concentrações superiores aquela que a framboesa fornece e aquilo que deve estar presente numa dieta equilibrada. Este ponto é essencial visto que os estudos não correspondem as quantidades presentes na framboesa o que dificulta a clareza dos resultados.

Para se poder alegar que um constituinte de um alimento é benéfico para um determinado efeito é necessário a presença de estudos com intervenção no ser humano que comprovem que realmente existe uma causa-efeito no consumo desse alimento, no caso das antocianinas da framboesa a maioria dos estudos analisados recorreram ao uso de animais e de experiências *in vitro*. A não comprovação destes efeitos no ser humano faz com que os resultados não sejam plausíveis para se poder chegar à conclusão que o consumo equilibrado de framboesas realmente tem um efeito benéfico.

O efeito antioxidante deste composto apesar de se comprovado pelos autores, utilizando os métodos de captação de radicais livres *in vitro* como no estudo efetuado por Çekiç & Mustafa, (2009) não é o suficiente para se poder retirar conclusões visto que não foram analisados estudos com base em animais nem estudos com intervenção no ser humano para este efeito. Numa forma mais resumida o efeito antioxidante das antocianinas da framboesa não apresentam resultados suficientes para se poder concluir se este efeito é benéfico ou não para a saúde humana.

Para o efeito anti-inflamatório, apesar não serem analisados estudos com intervenção no ser humano, este efeito foi comprovado tanto *in vivo* com uso de animais e *in vitro* utilizando macrófagos humanos, como por exemplo no estudo feito por Li et al (2014). Os efeitos anti-inflamatórios deste composto estão relacionados diretamente com a diminuição da expressão de interleucinas inflamatórias e ambos os estudos analisados conseguiram alcançar este efeito. Apesar dos estudos terem recorrido ao uso de animais num grupo específico, isto é, a utilização de ratos administrados com substâncias tóxicas de forma a proporcionar uma colite nos mesmos animais Bibi et al (2017) os resultados foram obtidos com a administração de 20g de pó de framboesa e não de um padrão ou de uma quantidade superior de antocianinas do que a presente na framboesa. Por outro lado, estudos que utilizaram extratos padrão ricos em antocianinas provenientes de diversos frutos e obtiveram resultados parecidos, leva à conclusão que o efeito anti-inflamatório é alcançado utilizando uma dose de framboesas ou mesmo um padrão. Para se poder alegar se este efeito é benéfico ou não para a saúde humana so falta mesmo resultados de estudos que utilizem as framboesas numa dieta equilibrada e com intervenção em humanos (saudáveis ou não) e assim poder-se dizer que a suplementação de framboesa apresenta um efeito antioxidante benéfico na saúde.

A nível cardiovascular, apesar de ter sido analisado um estudo recente efetuado por Kirakosyan et al (2017) estes autores utilizaram ratos propensos à obesidade como modelo cardiometabólico e não ratos saudáveis de forma a se obter resultados sobre a prevenção e não sobre o tratamento em si, para além disto este estudo foi o único analisado não podendo assim retirar-se conclusões sobre este efeito.

Os efeitos com maior número e clareza de estudos foi na obesidade/diabetes, existem estudos *in vitro* que explicam o mecanismo das antocianinas em adipócitos humanos, onde foram observados efeitos na regulação da expressão de enzimas importantes para estas doenças, e existem estudos *in vivo* em animais, comprovando assim os resultados obtidos. Apesar da maioria recorrer a extratos padrão ricos em antocianinas na análise dos resultados, estes não divergiram pelo uso de dosagens diferentes. Os estudos não foram analisados como forma de prevenção mas sim como forma de tratamento o que não vai de acordo com o consumo regular de framboesa para uma dieta equilibrada.

Apesar de com os resultados destes estudos não se conseguir chegar a uma conclusão, surgiu um estudo mais recente que têm imensa importância. Tucakovic et al (2018) recorreram a uma suplementação de antocianinas e administraram em humanos. Os resultados deste estudo vão de encontro com os anteriormente analisados e apesar de ser

utilizado um padrão, chegou-se à conclusão que as antocianinas apresentam um efeito benéfico na saúde humana. Assim, com base nos estudos identificados este composto pode ser utilizado como prevenção e/ou auxiliar no tratamento com base em suplementos ou uma fonte alimentar de compostos ativos que podem ter um papel importante em doenças como a obesidade e a diabetes.

Nas antocianinas para além destes efeitos relatados, também existe informação científica, um pouco mais fraca e menos explicada, que indica que existem outros efeitos que devem ser futuramente estudados. Neste grupo de estudos encontramos o estudo de Ma et al (2018) que obtiveram resultados *in vitro* sobre o efeito protetor deste composto a nível das doenças mentais e o estudo de Demirbas et al (2017) que associaram as antocianinas a nanopartículas e observaram que esta associação demonstrava um maior poder antioxidante que o normal observado nos estudos anteriores e que apresentava também um efeito sinérgico anti microbial contra bactérias Gram negativo e positivo e também contra fungos.

De forma mais resumida o único efeito analisado que pode ser alegado benéfico para a saúde humana, é o efeito destes compostos na obesidade e diabetes. O uso de suplementação á base de framboesas pode fornecer uma proteção significativa contra o desenvolvimento e a progressão destas patologias.

2. Elagitaninos

A presença de elagitaninos no fruto da framboesa já se encontra a algum tempo descoberta, Mullen et al (2002) utilizaram uma cromatografia líquida de alta eficiência e relataram que os principais elagitaninos da framboesa são a lambertianina C e a sanguina H-6, apesar de a cromatografia ser o método mais utilizado, anteriormente Vrhovsek et al (2009) já tinham quantificado os elagitaninos presentes neste fruto com base no uso de uma hidrólise destes compostos em metanol.

Apesar de Gasperotti et al (2010) chegar á mesma conclusão sobre a quantificação destes compostos, estes relataram que, em média, os elagitaninos representam 81% do valor total para os polifenóis, o que representa um conteúdo total com uma variação entre 90 a 164mg por 100g de framboesa.

Os efeitos que este compostos podem fornecer estão dependentes da formação de metabolitos pela microflora existente no intestino, nomeadamente as urolitinas, Ludwig et al (2015) utilizando voluntários saudáveis descreveram que no plasma destes voluntários podia-se encontrar a presença destas urolitinas, mas pela análise das amostras

de urina também foi relatado que estes compostos passadas 48h ainda se encontravam presentes, o que indica que estes metabolitos encontram-se no organismo durante algum tempo elevando assim o seu valor terapêutico.

As propriedades vasorelaxantes destes compostos ainda se encontram poucas estudadas, para este efeito foi analisado um estudo *in vivo* feito em coelhos como modelo. Neste estudo foi utilizado um padrão (25µl de elagitaninos) e uma substância que contraísse os vasos, apesar de ser comprovado que estes compostos são vasorelaxantes, não podemos retirar uma conclusão concreta se realmente este efeito pode ser atingido em humanos visto ao uso de elagitaninos em padrão puro (que não corresponde ao que existem na framboesa) e à falta de estudos em humanos que comprovem que este efeito também pode ser alcançado em humanos *in vivo*.

Para o efeito antiproliferativo destes compostos foram analisados 2 estudos *in vitro* que utilizaram células cancerígenas humanas (células cervicais e células intestinais de pacientes com cancro). No primeiro estudo, Ross et al (2007) utilizaram extratos de framboesa enriquecidos em polifenóis (antocianinas e elagitaninos) e comprovaram que estes extratos inibiam a proliferação destas células numa dose dependente. Já no segundo estudo Núñez-Sánchez et al (2016) chegaram a resultados parecidos, mas com a utilização de metabolitos dos elagitaninos. A utilização de metabolitos e a associação de elagitaninos com outros compostos faz com que estes resultados não sejam concretos relativamente ao efeito dos elagitaninos para a saúde humana, apesar de estar comprovado este efeito *in vitro*, é necessário a análise de mais resultados para se poder alegar que este efeito está bem definido e que realmente o consumo de framboesas pode estar implicado no tratamento de patologias como o cancro. Estes estudos são relevantes para elevar o interesse de outros investigadores para os efeitos antiproliferativos dos elagitaninos.

No caso do efeito anti-inflamatório, o estudo analisado para este efeito foi o de Jean-Gilles et al (2013), este autores dividiram o seu trabalho em dois estudo, um estudo *in vitro* usando células basais de bovino e um estudo *in vivo* em ratos modificados especificamente para a realização do estudo. Em ambos os estudo foram utilizados parâmetros que divergem daquilo que a framboesa pode proporcionar na saúde, os resultados obtidos para as células basais indicam que realmente existe uma proteção da oxidação reduzindo o dano produzido na degradação da cartilagem, mas ao não utilizar células humanas este mecanismo não é plausível para os benefícios deste composto em humanos. O mesmo acontece no estudo *in vivo*, ao utilizar ratos modificados não saudáveis juntamente com um tratamento de um extrato padrão de framboesa não

podemos estabelecer se uma dieta equilibrada em framboesas pode ou não prevenir/tratar as patologias relacionadas com a inflamação.

Para obter resultados em relação á patologia da diabetes, ambos os estudos analisados focaram o trabalho na atividade de certas enzimas relacionadas com esta patologia, como por exemplo a α -amílase. Tanto Cheplick et al (2006) como Grussu et al (2010) chegaram á conclusão que estes composto inibiam *in vitro* este tipo de enzimas. No primeiro estudo foi utilizado 40mg de framboesas e no segundo foram utilizados extratos ricos em polifenóis, como os resultados foram idênticos para os dois podemos concluir que o consumo de framboesa pode trazer benefícios para esta patologia. Apesar de não terem sido analisados estudos *in vivo* em animais e humanos o que diminui a plausibilidade dos resultados, a framboesa pode ser utilizada na formulação de suplementos dietéticos ou mesmo numa terapia preventiva que pode levar á diminuição das dosagens, nomeadamente de medicamentos usados no tratamento da diabetes, levando assim á diminuição dos efeitos adversos provenientes deste tipo de terapêuticas.

Na aterosclerose o estudo analisado utilizou hamsters administrados com uma dieta de forma a induzir a aterosclerose, assim não podemos retirar conclusões sobre a prevenção deste tipo de patologias, mas sim do uso destes compostos como adjuvantes no tratamento. Como resultados Suh et al (2011) relataram que o uso de 275 ml de suco de framboesa durante 12 semanas baixava os níveis de triglicéridos e os níveis de colesterol presentes nos ratos. Os níveis elevados de triglicéridos e colesterol são fatores de risco para esta patologia em questão, e a sua diminuição é um dos métodos preventivos para a mesma. Visto que 275 ml de suco de framboesa é uma dosagem que pode ser considerada numa dieta equilibrada, o uso de framboesa pode ser utilizado como suplementação preventiva para este tipo de patologia ou mais patologias que estejam associadas ao nível de triglicéridos e de colesterol. Para estes resultados serem confirmados efetivamente, a investigação dos efeitos devia ser realizada em estudos de intervenção em humanos (saudáveis e em grupos de risco para estas patologias) de forma a estabelecer qual a dosagem apropriada para se obter um efeito preventivo.

Por fim, para analisar os efeitos dos elagitaninos em doenças metabólicas, como por exemplo a obesidade, Pimiä et al (2013) estudaram os efeitos destes compostos com base numa intervenção em humanos que apresentavam sintomas de doença metabólica. A principal diferença obtida nos resultados deste estudo foi a nível do aumento concentração da leptina, cujo o seu efeito foi explicado anteriormente. Para este estudo os autores utilizaram a junção de 71mg de antocianinas e de 789mg de elagitaninos o que não vai de

acordo com a quantidade de elagitaninos presente na framboesa (90-164mg), ou seja, foi utilizado uma concentração cerca de 4,8x maior que a que esta presente na framboesa. Assim não podemos considerar que uma dieta equilibrada em framboesas pode fornecer estes benefícios, mas podemos concluir que a formulação de suplementos pode ser viável na prevenção estas patologias.

3. Ácido Elágico

Está comprovado que as framboesas apresentam uma quantidade de ácido elágico de 207-244mg por kg de fruto fresco (De Ancos, Gonzalez, & Cano, 2000), mas através da análise dos estudos referentes a este composto, observamos que a administração deste composto não foi feita de modo regular. Isto é, os vários autores não utilizaram a mesma dosagem nem o mesmo tipo de extrato, por exemplo no estudo efetuado por Sunil et al (2013) a dosagem de ácido elágico não foi especificado, foi apenas administrado uma dose de 800mg/kg de extratos de framboesa ricos em ácido elágico. Este é um ponto muito importante para se poder tirar algum tipo de conclusão. Visto que a framboesa apresenta X/100mg a variação de dosagens entre os diversos estudos faz com que não se consiga estabelecer uma relação entre a dosagem e o efeito esperado. O mesmo ocorre nos estudos efetuados *in vitro* onde a diferença entre as dosagens efetuadas pelos autores (variou entre os estudos de 1µM a 100µM) tornando difícil a compreensão de qual a dosagem apropriada.

Por outro lado e visto que estamos a falar de um fruto, a utilização de extratos puros de ácido elágico vai dificultar a clareza dos resultados obtidos, porque esta utilização vai ter resultados diferentes daqueles que realmente a framboesa pode fornecer em relação a este composto.

Outro ponto que dificulta a transparência dos resultados para o ácido elágico, é que os estudos analisados para este composto foram efetuados em animais e não em humanos, e para além disto estes estudos foram feitos com base num grupo específico, ou seja, animais hipertensos, obesos, dislipidémicos ou apresentando diabetes tipo 2 o que não será significativo para a prevenção deste tipo de doenças em sujeitos considerados saudáveis.

No caso do efeito do ácido elágico na aterosclerose foram analisados estudos *in vitro* utilizando células humanas, como por o estudo feito por Mele et al (2016) que recorreu ao uso de macrófagos e células endoteliais humanas e de um extrato puro de ácido elágico (10µM), no qual se retiram conclusões acerca do mecanismo de ação e não

sobre se este composto tem uma ação de preventiva da doença. Apesar de ser analisado um estudo (Yu et al., 2015) que recorreu ao uso de animais previamente tratados de forma a induzir a aterosclerose, isto não foi o suficiente para se tirar partido de algum efeito benéfico que o ácido elágico possa produzir na saúde humana, precisando de mais estudos, nomeadamente, estudos efetuados com uma intervenção no ser humano.

O efeito antioxidante do ácido elágico é um dos efeitos com mais precursão na saúde, pois este efeito está implicado no desenvolvimento de várias patologias. O interesse neste efeito é descobrir se este composto está relacionado com a captação/inibição de espécies reativas que possam provocar um *stress* oxidativo (por exemplo: espécies reativas de oxigénio). Pelos resultados anteriormente referidos pode-se afirmar que este composto demonstrou um poder antioxidante tanto *in vitro* como *in vivo* protegendo a oxidação não benéfica a nível renal e a nível do ADN. Para poder alegar o efeito antioxidante do ácido elágico é também necessário a existência de mais estudos diversificados para mais tipos de oxidação e não apenas aqueles já referidos e também a realização de estudos que demonstrem a dosagem-dependente de ácido elágico para o efeito antioxidante. A presença de mais estudos com intervenção no ser humano também é fundamental para se poder retirar mais resultados.

Para o efeito anticancerígeno do ácido elágico foram analisados 2 estudos que recorreram ao uso de células cancerígenas humanas *in vitro*. O efeito deste composto ainda se encontra de uma rudimentar pois não foi analisado nenhum estudo em animais e humanos. A questão da falta de análise de mais estudos pode ser devida em certos fatores como o uso de doentes oncológicos para o estudo e pela falta de mecanismos que possam explicar a ação preventiva deste composto. Partindo destes pontos atrás referidos não se pode retirar nenhuma conclusão concreta sobre o efeito anticancerígeno do ácido elágico.

Para os efeitos do ácido elágico a nível cardiovascular, os estudos analisados recorreram ao uso de extratos/frutos de framboesa para se obter resultados. Como dito anteriormente o uso de extratos contendo ácido elágico não vai de acordo com a quantidade que efetivamente está presente na framboesa, assim é difícil demonstrar que as quantidades presentes na framboesa são suficientes para se poder alegar que este composto tem um efeito benéfico a nível cardiovascular. O estudo feito por Kannan & Quine, (2013) foi aquele que mais chegou perto de se poder retirar alguma conclusão concreta, estes autores conseguiram comprovar que um pré-tratamento oral de ácido elágico proveniente de framboesas (7,5-15mg/kg) protegia os ratos de certos fatores como por exemplo arritmias. Se este efeito de prevenção for estudado com o uso de intervenção

em humanos, pode-se então alegar que o ácido elágico contribui de forma positiva para uma prevenção de doenças cardiovasculares.

Para a obesidade os autores explicaram o mecanismo de atuação do ácido elágico *in vivo* e demonstram os efeitos de este em ratos obtendo resultados positivos na acumulação de gorduras e na melhoria do perfil lipídico, apesar de este efeito ser significativo, não é o suficiente para podermos retirar conclusões pois novamente foi utilizado um extrato rico em ácido elágico (100mg/kg) onde deveria ter sido utilizado as quantidades presentes na framboesa para assim podermos alegar que este fruto apresenta benefícios para esta doença. Como referido anteriormente, é necessário a comprovação através de estudos efetuados em seres humanos e com doses respeitantes á framboesa, para se poder realçar que o ácido elágico tem um efeito preventivo na obesidade.

Por último, a diabetes também foi relacionada com a administração de ácido elágico. Ahad, Ganai, Mujeeb & Sriddiqui (2013) comprovaram que o ácido elágico atenuava certos fatores provocados pela diabetes. Tal com na obesidade, estes autores utilizaram uma dose de extratos contendo ácido elágico (40mg/100mg) superior aquela encontrada na framboesa, assim novamente não se podem retirar conclusões concretas sobre este efeito. Para além disto, um artigo apenas não é suficiente para desmotrar se existe uma relação causa-efeito entre o consumo do alimento e o benefício para a saúde.

Em suma, o ácido elágico, presente na framboesa, apesar de ter resultados positivos em diversos efeitos, a bibliografia analisada não apresenta condições e não é suficiente, pelos motivos já referenciados anteriormente, para se alegar que o ácido elágico presente na framboesa apresenta efeitos benéficos que possam ser atingidos na âmbito de uma dieta equilibrada.

4. Cetona

A cetona é um constituinte da framboesa que se encontra em quantidades variadas entre 0,009 e 4,3 mg/kg de fruto (VFC,2018). Pela análise dos estudos referentes a este composto ficamos a saber que as dosagens utilizadas para cada estudo não vão de acordo com a quantidade presente na framboesa, os autores utilizaram quantidades superiores deste composto para os seus estudos, como por exemplo o estudo efetuado por Pagani & Thistlethwaite (2015) que utilizaram 125/250 mg de cetona, um valor muito superior aquele que o fruto pode fornecer. Visto que uma caixa de framboesa tem cerca de 120mg de framboesas o que corresponde a 0,00012 kg era necessario o consumo excessivo de este fruto para se obter os valores esperados de cetona.

Um dos problemas verificados para este composto nos estudos *in vivo* em humanos é devido à sua presença em suplementos que na sua constituição apresentam mais constituintes adicionais à presença de cetona, este fator faz com que os resultados não sejam claros.

O principal efeito da cetona é na obesidade, pelos estudos *in vitro* analisados ficamos a saber que este composto atua de forma positiva na expressão de determinadas enzimas, no aumento de oxidação dos ácidos gordos e na supressão da acumulação de lipídios nos adipócitos humanos. Através da explicação destes mecanismos da cetona podemos seguir para os estudos feitos em animais para se poder retirar mais informação sobre o efeito benéfico deste composto.

Nos estudos efetuados em animais, a maioria dos autores conseguiu retirar as mesmas conclusões sobre este composto, apesar de não serem usadas dosagens iguais para cada estudo e de serem utilizadas dosagens padrão, os autores chegaram à conclusão que a cetona utilizada reduziu principalmente o peso ganho pelos ratos administrados com uma dieta hiperlipídica. Apesar de estes resultados não irem de acordo com a utilização de frutos na forma preventiva de doenças, estes resultados são promissores para a utilização deste composto em suplementos utilizados como por exemplo na perda de peso o que nos leva então aos estudos efetuados no ser humano.

Nos estudos efetuados com intervenção no ser humano, como referenciado anteriormente, os principais problemas para se poder retirar conclusões com clareza foram devidos à utilização de suplementos com vários compostos para além da cetona e também devido à utilização de dosagens superiores àquela que uma dieta equilibrada de framboesa pode fornecer. Mesmo assim os autores chegaram à conclusão que a cetona estava implicada na redução de peso corporal em indivíduos saudáveis e indivíduos obesos.

Apesar de terem sido utilizados valores superiores de cetona, o efeito deste composto na perda de peso foi comprovado em humanos, o que nos leva a pensar que se uma dieta rica em framboesas não é o suficiente para se obter estes valores, este composto pode ser utilizado de outras formas como por exemplo na formulação de suplementos com o intuito da redução do peso corporal.

IV. Conclusão

Após a realização desta revisão sobre os efeitos benéficos dos compostos bioativos da framboesa na saúde, observou-se que o consumo de framboesa pode fornecer benefícios como a ação antioxidante, anti-inflamatória e anticancerígena que estão na base de patologias crónicas que surgem cada vez mais na nossa sociedade.

Tendo em conta as orientações da EFSA sobre alimentos, nesta revisão foi elaborado:

- A identificação dos constituintes;
- A caracterização dos constituintes;
- E a comprovação (ou não) dos efeitos alegados para cada constituinte.

Nos pontos acima referidos, a principal dificuldade desta revisão foi a comprovação dos efeitos alegados, isto deve-se à falta de ensaios de intervenção em humanos, ou seja, os dados científicos não demonstraram na totalidade que o efeito fisiológico alegado do alimento é benéfico para a saúde humana.

Apesar da diversidade da pesquisa analisada para cada constituinte, não foi possível chegar a conclusão que o consumo de framboesa de forma equilibrada pode fornecer benefícios plausíveis a nível de saúde humana.

Relativamente às propriedades antioxidantes da framboesa, examinou-se que os seus compostos possuem um potencial antioxidante tanto *in vitro* em avaliações químicas como em meios celulares.

Na patologia da aterosclerose, apesar de ser referenciada por diversos autores, os mecanismos principais associados ao consumo de compostos presentes na framboesa devem-se ao seu efeito anti-inflamatório e ao seu efeito na adesão de macrófagos aos tecidos endoteliais. Este efeito da framboesa nesta patologia ainda se encontra pouco estudado, precisando de mais informação científica para se puder sustentar.

A nível de doenças relacionadas com a síndrome metabólica (obesidade, problemas cardiovasculares e diabetes) foi analisado que os constituintes da framboesa atuaram de forma positiva, diminuindo a expressão de citocinas inflamatórias, na regulação dos níveis de colesterol e triglicéridos, na expressão de leptina, na inibição da α -amílase, no controlo do peso corporal e outros mecanismos importantes para as patologias referidas.

As propriedades anticancerígenas deste fruto envolvem vários mecanismos de ação, sendo que os constituintes da framboesa podem atuar afetando a viabilidade, a proliferação, a apoptose celular, na interferência com o ciclo celular ou mesmo com a redução do *stress* oxidativo e na diminuição das citocinas inflamatórias. Tal como referido anteriormente para se poder chegar a uma conclusão concreta de estes efeitos é necessário a repetição dos ensaios estabelecidos tanto em animais como em humanos.

Como forma de conclusão deste trabalho de revisão, não foi possível chegar á finalidade que uma dieta equilibrada de framboesa apresenta benefícios consistentes no que toca a saúde humana, mas foi possível concluir que este fruto de baga pode ser utilizado como suplemento dietético, nomeadamente, no controlo do peso corporal (cetona) e no controlo de diabetes (elagitaninos).

A utilização da framboesa como prevenção das patologias acima referidas é cada vez mais uma estratégia promissor e em desenvolvimento, contudo é necessária uma análise mais detalhada e concisa nos aspetos como a dosagem apropriada para cada efeito e o seu mecanismo de ação.

Mesmo assim o consumo de frutos como a framboesa deve estar sempre presente numa dieta equilibrada.

V. Bibliografia

- Ahad, A., Ganai, A. A., Mujeeb, M., & Siddiqui, W. A. (2014). Ellagic acid, an NF- κ B inhibitor, ameliorates renal function in experimental diabetic nephropathy. *Chemico-Biological Interactions*, 219, 64–75. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.05.011>
- Aiyer, H. S., Vadhanam, M. V., Stoyanova, R., & Caprio, G. D. (2008). Dietary Berries and Ellagic Acid Prevent Oxidative DNA Damage and Modulate Expression of DNA Repair Genes, 327–341.
- Bakkalbasi, E., Menten, O., & Artik, N. (2009). Food ellagitannins-occurrence, effects of processing and storage. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(3), 283–298. <https://doi.org/10.1080/10408390802064404>
- Barreiro, C. (2015). Agricultural Research updates, 1–345. Retrieved from <https://mail.google.com/mail/u/0/?pli=1%5Cnpapers3://publication/uuid/D84FC782-E317-4880-B951-0697213436E1>
- Bazzano, L. A. (2005). Dietary intake of fruit and vegetables and risk of diabetes mellitus and cardiovascular diseases In background paper of the joint FAO/WHO work shop on Fruit and Vegetables for health. *World Health Organization*, 51–65. <https://doi.org/NLM WB 430>
- Beattie, J., Crozier, A., & Duthie, G. (2005). Potential Health Benefits of Berries. *Current Nutrition & Food Science*, 1(1), 71–86. <https://doi.org/10.2174/1573401052953294>
- Bharathi, E., & Jagadeesan, G. (2013). Antioxidant potential of hesperidin and ellagic acid on renal toxicity induced by mercuric chloride in rats. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(2), 131–136. <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2013.12.007>
- Bibi, S., Kang, Y., Du, M., & Zhu, M. (2017). Dietary red raspberries attenuate dextran sulfate sodium-induced acute colitis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 51, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.08.017>
- Bobinaite, R., Viskelis, P., Bobinas, C., Mieliene, A., Alencikiene, G., & Venskutonis, P. (2015). Raspberry marc extracts increase antioxidative potential , ellagic acid , ellagitannin and anthocyanin concentrations in fruit purees, 66, 460–467. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.069>
- Borges, G., Roowi, S., Rouanet, J., Duthie, G. G., & Lean, M. E. J. (2007). The bioavailability of raspberry anthocyanins and ellagitannins in rats, 714–725.

<https://doi.org/10.1002/mnfr.200700024>

- Bowen-forbes, C. S., Zhang, Y., & Nair, M. G. (2009). Anthocyanin content , antioxidant , anti-inflammatory and anticancer properties of blackberry and raspberry fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 554–560. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.08.012>
- Bredsdorff, L., Wedebye, E. B., Nikolov, N. G., Hallas-møller, T., & Pilegaard, K. (2015). Raspberry ketone in food supplements e High intake , few toxicity data e A cause for safety concern ? *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73(1), 196–200. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.06.022>
- Bulani, V. D., Kothavade, P. S., Kundaikar, H. S., Gawali, N. B., Chowdhury, A. A., Degani, M. S., & Juvekar, A. R. (2015). Inclusion complex of ellagic acid with b - cyclodextrin : Characterization and in vitro anti-in fl ammatory evaluation, 1105, 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.08.054>
- Çekiç, Ç., & Mustafa, O. (2009). Composition and Analysis Comparison of antioxidant capacity and phytochemical properties of wild and cultivated red raspberries (*Rubus idaeus L .*), 23, 540–544. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.07.002>
- Cerdá, B., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2005). Metabolism of antioxidant and chemopreventive ellagitannins from strawberries, raspberries, walnuts, and oak-aged wine in humans: Identification of biomarkers and individual variability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf049144d>
- Chen, L., Xin, X., Zhang, H., & Yuan, Q. (2012). Phytochemical properties and antioxidant capacities of commercial raspberry varieties. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.10.009>
- Cheplick, S., Know, Y., Bhowmik, P., & Shetty, K. (2006). CLONAL VARIATION IN RASPBERRY FRUIT PHENOLICS AND RELEVANCE FOR DIABETES AND HYPERTENSION MANAGEMENT. *Journal of Food Biochemistry*, 31(2007), 656–679.
- Clifford, M. N., & Scalbert, A. (2000). Review anthocyanis – nature , occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(November 1999), 1118–1125. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515))
- De Ancos, B., Gonzalez, E. M., & Cano, M. P. (2000). Ellagic acid, vitamin C, and total

- phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4565–4570. <https://doi.org/10.1021/jf0001684>
- Demirbas, A., Yilmaz, V., Ildiz, N., Baldemir, A., & Ocsoy, I. (2017). Anthocyanins-rich berry extracts directed formation of Ag NPs with the investigation of their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Molecular Liquids*, 248, 1044–1049. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.10.130>
- Espin, J. C., González-Barrio, R., Cerda, B., López-Bote, C., Rey, A. I., & Tomas-Barberán, F. A. (2007). Iberian Pig as a Model To Clarify Obscure Points in the Bioavailability and Metabolism of Ellagitannins in Humans, 10476–10485.
- Figueira, M. E., Câmara, M. B., Direito, R., Rocha, J., Serra, A. T., Duarte, C., ... Sepodes, B. (2016). Chemical characterization of a red raspberry fruit extract and evaluation of its pharmacological effects in experimental models of acute inflammation and collagen-induced arthritis. *International Journal of Psychosocial Rehabilitation*, 20(2), 25–33. <https://doi.org/10.1039/x0xx00000x>
- Fjaeraa, C., & Nanberg, E. (2008). Effect of ellagic acid on proliferation, cell adhesion and apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells, 63, 254–261. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2008.07.093>
- Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração geral (2017). Produtos Vegetais- Informação de mercados, acessado em dia 3 de setembro de 2018 e disponível em: www.gpp.pt/images/GPP/o_que_disponibilizamos/Publicações/Periodicos/BrochuraVegetal/2018
- Galleta, G.J & Himelrick, D.G. (1989). Raspberry management em: G.J Galleta e D.G Himelrick (eds). Small fruitcrop management. Prentice-Hall,Inc, New Jersey
- Glei, M., Matuschek, M., Steiner, C., Böhm, V., Persin, C., & Pool-Zobel, B. L. (2003). Initial in vitro toxicity testing of functional foods rich in catechins and anthocyanins in human cells. *Toxicology in Vitro*, 17(5–6), 723–729. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(03\)00099-7](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(03)00099-7)
- González-Barrio, R., Borges, G., Mullen, W., & Crozier, A. (2010). Bioavailability of anthocyanins and ellagitannins following consumption of raspberries by healthy humans and subjects with an ileostomy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 3933–3939. <https://doi.org/10.1021/jf100315d>

- Gopalakrishnan, L., Ramana, L. N., Sethuraman, S., & Krishnan, U. M. (2014). Ellagic acid encapsulated chitosan nanoparticles as anti-hemorrhagic agent. *Carbohydrate Polymers*, *111*, 215–221. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.03.093>
- Grussu, D., Stewart, D., & McDougall, G. J. (2011). Berry polyphenols inhibit α -amylase in vitro: Identifying active components in rowanberry and raspberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jf1045359>
- Guo, H., Xia, M., Zou, T., Ling, W., Zhong, R., & Zhang, W. (2012). Cyanidin 3-glucoside attenuates obesity-associated insulin resistance and hepatic steatosis in high-fat diet-fed and db/db mice via the transcription factor FoxO1. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *23*(4), 349–360. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.12.013>
- Halvorsen, B. L., Carlsen, M. H., Phillips, K. M., Bøhn, S. K., Holte, K., Jacobs, D. R., & Blomhoff, R. (2006). Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. *American Journal of Clinical Nutrition*, *84*(1), 95–135. <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.1.95>
- Hanover L.M & White J.S (1993) Manufacturing, composition and applications of fructose. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *58*(5), 7245-7325
- Heide, O. M., & Sønsteby, A. (2011). Physiology of flowering and dormancy regulation in annual- and biennial-fruited red raspberry (*Rubus idaeus L.*) - A review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *86*(5), 433–442. <https://doi.org/10.1080/14620316.2011.11512785>
- Howard, L. R., Castrodale, C., Brownmiller, C., & Mauromoustakos, A. (2010). Jam processing and storage effects on blueberry polyphenolics and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(7), 4022–4029. <https://doi.org/10.1021/jf902850h>
- Instituto Nacional Doutor Ricardo Jorge (2017). Frutas e Hortícolas: análise comparativa dos seus teores em compostos fenólicos e flavonóides totais. Acedido em dia 20 de setembro de 2018 e disponível em: <http://portfir.insa.pt/>
- Introduction To Volatile Compounds in Food (16.1). Acedido a: 2 de dezembro de 2018 e disponível em: www.vcf-online.nl/Vcf-home.
- Jean-Gilles, D., Li, L., Ma, H., Yuan, T., Chichester, C. O., & Seeram, N. P. (2011). Anti-

- inflammatory effects of polyphenolic-enriched red raspberry extract in an antigen-induced arthritis rat model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(23), 5755–5762. <https://doi.org/10.1021/jf203456w>
- Jean-Gilles, D., Li, L., Ma, H., Yuan, T., Chichester III, C. o., & Seeram, N. p. (2013). Anti-Inflammatory Effects of Polyphenolic-Enriched Red Raspberry Extract in an Antigen Induced Arthritis Rat Model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(23), 5755–5762. <https://doi.org/10.1021/jf203456w>.Anti-Inflammatory
- Jennings, D.L (1988). Raspberries and Blcakberries : Their breeding, diseases and growth. Academic Press.
- Kannan, M. M., & Quine, S. D. (2013). Ellagic acid inhibits cardiac arrhythmias, hypertrophy and hyperlipidaemia during myocardial infarction in rats. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 62(1), 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2012.06.003>
- Kim, J., Kyung, J., Kim, D., Choi, E., & Bang, P. (2012). Anti-obesity effects of Rapha diet ® preparation in mice fed a high-fat diet, 28(4), 265–271.
- Kirakosyan, A., Seymour, E. M., Kondoleon, N., Gutierrez, E., Wolforth, J., & Bolling, S. (2017). The intake of red raspberry fruit is inversely related to cardiac risk factors associated with metabolic syndrome. *Journal of Functional Foods*, 41(December 2017), 83–89. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.033>
- Koeduka, T., Watanabe, B., Suzuki, S., Hiratake, J., & Yazaki, K. (2011). Biochemical and Biophysical Research Communications Characterization of raspberry ketone / zingerone synthase , catalyzing the alpha , beta-hydrogenation of phenylbutenones in raspberry fruits. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 412(1), 104–108. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.07.052>
- Kumar, D., Basu, S., Parija, L., Rout, D., Manna, S., Dandapat, J., & Ranjan, P. (2016). ScienceDirect Curcumin and Ellagic acid synergistically induce ROS generation , DNA damage , p53 accumulation and apoptosis in HeLa cervical carcinoma cells. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 81, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.03.037>
- Landete, J. M. (2011). Ellagitannins , ellagic acid and their derived metabolites : A review about source , metabolism , functions and health. *FRIN*, 44(5), 1150–1160. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.027>

- Leu, S., Tsai, Y., Chen, W., Hsu, C., Lee, Y., & Cheng, P. (2018). Raspberry ketone induces brown-like adipocyte formation through suppression of autophagy in adipocytes and adipose tissue. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *56*, 116–125. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.01.017>
- Li, L., Wang, L., Wu, Z., Yao, L., Wu, Y., Huang, L., ... Gou, D. (2014). Anthocyanin-rich fractions from red raspberries attenuate inflammation in both RAW264.7 macrophages and a mouse model of colitis. *Scientific Reports*, *4*, 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep06234>
- Lindsay, D. G., & Astley, S. B. (2002). European research on the functional effects of dietary antioxidants - EUROFEDA. *Molecular Aspects of Medicine*. [https://doi.org/10.1016/S0098-2997\(02\)00005-5](https://doi.org/10.1016/S0098-2997(02)00005-5)
- Lopez, H. L., Ziegenfuss, T. N., Hofheins, J. E., Habowski, S. M., Arent, S. M., Weir, J. P., & Ferrando, A. A. (2013). Eight weeks of supplementation with a multi-ingredient weight loss product enhances body composition , reduces hip and waist girth , and increases energy levels in overweight men and women, 1–14.
- Ludwig, I. A., Mena, P., Calani, L., Borges, G., Pereira-Caro, G., Bresciani, L., ... Crozier, A. (2015). New insights into the bioavailability of red raspberry anthocyanins and ellagitannins. *Free Radical Biology and Medicine*, *89*, 758–769. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.10.400>
- Luo, T., Adamson, A., Sasaki, G., & Shay, N. F. (2016). Development of obesity is reduced in high-fat fed mice fed whole raspberries , raspberry juice concentrate , and a combination of the raspberry phytochemicals ellagic acid and raspberry ketone, *6*, 213–223. <https://doi.org/10.3233/JBR-160135>
- Lutz, A. (2016). Compostos fenólicos em alimentos - uma breve revisão Phenolic compounds in foods - a brief review.
- M.N., C. (2000). Ellagitanins – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.*, *80*(November 1999). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515))
- Ma, H., Johnson, S. L., Liu, W., Dasilva, N. A., Meschwitz, S., Dain, J. A., & Seeram, N. P. (2018). Evaluation of Polyphenol Anthocyanin-Enriched Extracts of Blackberry, Black Raspberry, Blueberry, Cranberry, Red Raspberry, and Strawberry for Free Radical Scavenging, Reactive Carbonyl Species Trapping, Anti-Glycation, Anti- β -Amyloid Aggregation, and Mic. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*,

- 1–19. <https://doi.org/10.3390/ijms19020461>
- Me, J., Sook, J., Hyeon, T., & Ik, Y. (2009). Ellagic acid protects hepatocytes from damage by inhibiting mitochondrial production of reactive oxygen species. *Biomedicine et Pharmacotherapy*, 64(4), 264–270. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2009.06.013>
- Mele, L., Mena, P., Piemontese, A., Marino, V., López-Gutiérrez, N., Bernini, F., ... Del Rio, D. (2016). Antiatherogenic effects of ellagic acid and urolithins in vitro. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 599, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2016.02.017>
- Mikulic-Petkovsek, M., Schmitzer, V., Slatnar, A., Stampar, F., & Veberic, R. (2012). Composition of Sugars, Organic Acids, and Total Phenolics in 25 Wild or Cultivated Berry Species. *Journal of Food Science*, 77(10), 1064–1070. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02896.x>
- Morimoto, C., Satoh, Y., Hara, M., & Inoue, S. (2004). Anti-obese action of raspberry ketone, 77, 194–204. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.12.029>
- Mullen, W., McGinn, J., Lean, M. E. J., MacLean, M. R., Gardner, P., Duthie, G. G., ... Crozier, A. (2002). Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5191–5196. <https://doi.org/10.1021/jf020140n>
- Mullen, W., Stewart, A. J., Lean, M. E. J., Gardner, P., Duthie, G. G., & Crozier, A. (2002). Effect of freezing and storage on the phenolics, ellagitannins, flavonoids, and antioxidant capacity of red raspberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5197–5201. <https://doi.org/10.1021/jf020141f>
- Naczki, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523–1542. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.04.002>
- Núñez-Sánchez, M. Á., Karmokar, A., González-Sarriás, A., García-Villalba, R., Tomás-Barberán, F. A., García-Conesa, M. T., ... Espín, J. C. (2016). In vivo relevant mixed urolithins and ellagic acid inhibit phenotypic and molecular colon cancer stem cell features: A new potentiality for ellagitannin metabolites against cancer. *Food and Chemical Toxicology*, 92, 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.03.011>

- Oklaa, M., Inhae, K., Kim, D. M., Gourinenia, V., Shayc, N., Gua, L., & Chung, S. (2014). Ellagic acid modulates lipid accumulation in primary human adipocytes and human hepatoma Huh7 cells via discrete mechanisms. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 26(1), 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2014.09.010>
- Oliveira, P. B. ., Valdivieso, T., Esteves, A., Mota, M., & Fonseca, L. L. . (2007). A planta de framboesa: morfologia e fisiologia, 1–38.
- Pagani, A., & Thistlethwaite, J. (2015). The Effects of Raspberry Ketone Supplementation on Body Composition Angelo Pagani and Dr. John Thistlethwaite. Ohio Dominican University, Columbus, OH.
- Park, kyoung S. (2009). Raspberry Ketone Increases Both Lipolysis and Fatty Acid Oxidation in 3T3-L1 Adipocytes, 1654–1658.
- Poudyal, H., Waanders, J., Sunil K, P., Leigh, W., & Lindsay, B. (2013). Ellagic acid attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats, (February).
- Prior, R. L., & Gu, L. (2005). Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry*, 66(18 SPEC. ISS.), 2264–2280. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.03.025>
- Puupponen-Pimiä, R., Seppänen-Laakso, T., Kankainen, M., Maukonen, J., Törrönen, R., Kolehmainen, M., ... Oksman-Caldentey, K. M. (2013). Effects of ellagitannin-rich berries on blood lipids, gut microbiota, and urolithin production in human subjects with symptoms of metabolic syndrome. *Molecular Nutrition and Food Research*, 57(12), 2258–2263. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300280>
- Rao, A. V., & Snyder, D. M. (2010). Raspberries and human health: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 3871–3883. <https://doi.org/10.1021/jf903484g>
- Raseira, M., Gonçalves, E., Trevisa, R., & Antunes, L. (2004). Aspectos técnicos da cultura da framboeseira. *Embrapa*, 1–24.
- Ross, H. A., Mcdougall, G. J., & Stewart, D. (2007). Antiproliferative activity is predominantly associated with ellagitannins in raspberry extracts. *Phytochemistry*, 68, 218–228. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.10.014>
- Santos, M. V. L. oliveira. (2009). INFLUÊNCIA DA ENXERTIA HERBÁCEA NO

VIGOR, PRODUTIVIDADE E HÁBITOS DE FRUTIFICAÇÃO DA FRAMBOESA VERMELHA (*Rubus idaeus* L .).

- Sasaki, R., Nishimura, N., Hoshino, H., Isa, Y., Kadowaki, M., Ichi, T., ... Tsuda, T. (2007). Cyanidin 3-glucoside ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity due to downregulation of retinol binding protein 4 expression in diabetic mice. *Biochemical Pharmacology*, 74(11), 1619–1627. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.08.008>
- Silva, C. R. de M., & Naves, M. M. V. (2001). SUPLEMENTAÇÃO DE VITAMINAS NA PREVENÇÃO DE CÂNCER, 14(1), 135–143.
- Souza, M. B. (2007). Framboesa: qualidade pós-colheita. *Divulgação Agro 556*, 6, 35.
- Suh, J. H., Romain, C., González-Barrio, R., Cristol, J. P., Teissèdre, P. L., Crozier, A., & Rouanet, J. M. (2011). Raspberry juice consumption, oxidative stress and reduction of atherosclerosis risk factors in hypercholesterolemic golden Syrian hamsters. *Food and Function*, 2(7), 400–405. <https://doi.org/10.1039/c1fo10047e>
- Tsuda, T., Ueno, Y., Aoki, H., Koda, T., Horio, F., Takahashi, N., ... Osawa, T. (2004). Anthocyanin enhances adipocytokine secretion and adipocyte-specific gene expression in isolated rat adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 316(1), 149–157. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.02.031>
- Tsuda, T., Ueno, Y., Yoshikawa, T., Kojo, H., & Osawa, T. (2006). Microarray profiling of gene expression in human adipocytes in response to anthocyanins. *Biochemical Pharmacology*, 71(8), 1184–1197. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2005.12.042>
- Valipour, M., Maghami, P., Habibi-rezaei, M., & Moosavi-movahedi, A. A. (2016). Counteraction of the deleterious effects of reactive oxygen species on hemoglobin structure and function by ellagic acid. *Journal of Luminescence*, 182, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2016.10.003>
- Verlag, J. F. B., Honkanen, E., Pyysalo, T., & Hirvi, T. (1980). The Aroma of Finnish Wild Raspberries , *Rubus idaeus* , L ., 182, 180–181.
- Wang, L., Meng, X., & Zhang, F. (2012). Raspberry Ketone Protects Rats Fed High-Fat Diets Against Nonalcoholic Steatohepatitis, 15(5), 495–503. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.1717>
- WHO. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *World Health*

Organization Technical Report Series, 916, i–viii-1-149-backcover.
[https://doi.org/ISBN 92 4 120916 X ISSN 0512-3054](https://doi.org/ISBN%2092%204%20120916%20X%20ISSN%200512-3054) (NLM classification: QU 145)

- Yoshimura, Y., Nishii, S., Zaima, N., Moriyama, T., & Kawamura, Y. (2013). Ellagic acid improves hepatic steatosis and serum lipid composition through reduction of serum resistin levels and transcriptional activation of hepatic ppara in obese, diabetic KK-Aymice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 434(3), 486–491. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.03.100>
- Yu, Y., Chang, W., Wu, C., & Chiang, S. (2005). Reduction of oxidative stress and apoptosis in hyperlipidemic rabbits by ellagic acid, 16, 675–681. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.03.013>
- Zafra-stone, S., Yasmin, T., Bagchi, M., & Chatterjee, A. (2007). Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention, 675–683. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700002>