FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

IMPORTÂNCIA DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DOS FRUTOS NA PROMOÇÃO DA SAÚDE

PEDRO DAVID OLIVEIRA NEVES

2015

FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA

IMPORTÂNCIA DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DOS FRUTOS NA PROMOÇÃO DA SAÚDE

PEDRO DAVID OLIVEIRA NEVES

2015

PEDRO DAVID OLIVEIRA NEVES

IMPORTÂNCIA DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DOS FRUTOS NA PROMOÇÃO DA SAÚDE

Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profª. Doutora Ana Cristina Vinha

RESUMO

Quimicamente pode-se classificar os compostos fenólicos como fenóis simples ou polifenóis, com base no número de unidades de fenol existentes na molécula. Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas na natureza, entre as quais aproximadamente 8000 já foram identificadas nas plantas. Este grande grupo faz parte dos constituintes de uma variedade de vegetais, frutas e produtos industrializados. De uma maneira geral, estes compostos podem ser pigmentos naturais, influenciando as características organoléticas dos alimentos, ou produtos sintetizados pelo metabolismo secundário vegetal, normalmente derivados das reações de defesa das plantas contra as agressões do ambiente e dos predadores.

Os compostos fenólicos estão presentes na maioria das frutas e a sua identificação e quantificação revela informações importantes a respeito da qualidade dos alimentos e dos potenciais benefícios que os mesmos podem exercer na saúde.

Com base nas razões acima referidas, este trabalho teve como objetivo elaborar uma revisão bibliográfica exaustiva sobre os benefícios que os compostos fenólicos poderão exercer na saúde, nomeadamente, as suas atividades antioxidante, anticancíregena, cardioprotetora, anti-inflamatória, antienvelhecimento e antimicrobiana, através do conhecimento das suas estruturas químicas e mecanismos de ação. Por outro lado, foram descritos os perfis fenólicos de alguns frutos (maçã, pera, uva, marmelo, medronho, abrunho e figo) habitualmente inseridos no padrão alimentar da população portuguesa, de forma a dar a conhecer os compostos maioritários e, consequentemente, os responsáveis pelos efeitos benéficos do consumo desses frutos.

Palavras-chave: Compostos fenólicos; Propriedades terapêuticas; Frutos nacionais.

ABSTRACT

Chemically the phenolic compounds can be classified as simple phenols or polyphenols, based on the number of phenol units present in the molecule. Phenolic compounds are substances widely distributed in nature, and nowadays there are about 8000 different compounds that have been already identified in plants. This large group is part of the constituents of a variety of vegetables, fruits and processed food products. Generally, these compounds can be classified as natural pigments, influencing the organoleptic characteristics of food, or products synthesized by the secondary metabolism of the plants, usually derived from the plant mechanism of defense against environmental aggressions and predators.

Phenolic compounds are present in most fruits and their identification/ quantification reveals important informations about the quality of food and the potential benefits that they can have on the human health.

Based on the above reasons, this study aimed to establish a comprehensive literature review on the several benefits that phenolic compounds may play in health, including their antioxidant, cardioprotective, anti-inflammatory, anti-aging and antimicrobial activities, through the knowledge of their chemical structures and their mechanisms of action. On the other hand, the phenolic profiles of some fruits have been described (apple, pear, grape, quince, arbutus, sloe and fig), usually inserted into the eating patterns of the Portuguese population, in order to raise awareness on the major compounds and, consequently, responsible for the beneficial effects of eating these fruits.

Keywords: Phenolic compounds; Therapeutic properties; Portuguese fruits

.

AGRADECIMENTOS

Agradeço pela orientação na elaboração deste trabalho, pela disponibilidade e dedicação que sempre demonstraram a Professora Doutora Ana Cristina Vinha e a Professora Doutora Branca Silva.

À Universidade Fernando Pessoa, ao Reitor da Universidade Fernando Pessoa, Prof. Doutor Salvato Trigo por proporcionar aos alunos excelentes condições de ensino, para estes se tornarem profissionais competentes e a todos os meus professores por me ensinaram o que é ser farmacêutico.

Por fim aos meus colegas, que ao longo dos cinco anos demonstraram sempre disponibilidade e acima de tudo espírito de equipa.

ÍINDICE

I. INTRODUÇÃO 1
II. COMPOSTOS POLIFENÓLICOS 2
2.1. Ácidos fenólicos 3
2.2. Cumarinas 4
2.3. Flavonóides 5
2.4. Taninos 9
III. FRUTOS NACIONAIS E SUA CARACTERIZAÇÃO FENÓLICA 11
3.1. Frutos caraterísticos da dieta dos portugueses 11
3.1.1. Maçã 11
3.1.2. Pera 14
3.1.3. Uva 16
3.2. Outros frutos característicos de Portugal 18
3.2.1. Marmelo 18
3.2.2. Medronho 20
3.2.3. Abrunho 22
3.2.4. Figo 24
IV. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS POLIFENÓIS 26
4.1. Danificação Oxidativa 26
4.1.1. Stresse oxidativo 26
4.1.2. Peroxidação lipídica 26
4.1.3. Danificação do ADN 28
4.1.4. Oxidação de proteínas 28
4.1.5. Defesas antioxidantes 29
4.2. Atividade antioxidante dos polifenóis 30
4.2.1. Ácidos fenólicos 32
4.2.2. Cumarinas 33
4.2.3. Flavonóides 34
4.2.4. Taninos 38
4.3. Outras atividades biológicas 39
4.3.1. Atividade anticancerígena 39
4.3.2. Atividade cardioprotetora 43
4.3.3. Atividade anti-inflamatória 46

4.3.4. Atividade anti-envelhecimento 49
4.3.5. Atividade antimicrobiana 51
V. CONCLUSÃO 56
VI. BIBLIOGRAFIA 58

Índice de Figuras

Figura 1: Estruturas químicas dos principais ácidos hidroxibenzóicos..... 3
Figura 2: Estruturas químicas dos principais ácidos hidroxicinâmicos 4
Figura 3: Estrutura da cumarina..... 5
Figura 4: Estrutura base dos flavonóides 6
Figura 5: Estruturas das 10 principais classes de flavonóides 8
Figura 6: Estrutura de um tanino hidrolisado, concretamente o elagitanino telimagrandina II..... 10
Figura 7: Estrutura de um tanino condensado..... 10
Figura 8: Reação química demonstrativa do sequestro de um radical livre por um agente antioxidante..... 31
Figura 9: Mecanismo dos flavonóides na remoção de radicais..... 35
Figura 10: Estrutura de um flavonol com o grupo 3-hidroxilo livre..... 35
Figura 11: Estrutura de uma flavona com o grupo 5-hidroxilo, o grupo 4-carbonilo e dupla ligação entre C_2 e C_3 em destaque 36
Figura 12: Estrutura de uma isoflavona com a ligação do anel B ao C_3 do anel C e o grupo 4'-hidroxilo em destaque..... 36
Figura 13: Representação dos locais de ligação dos flavonóides a iões transição..... 38
Figura 14: Efeitos dos compostos fenólicos em alguns dos primeiros passos da aterosclerose. O sinal positivo (+) indica um aumento no efeito enquanto um sinal negativo (-) reflete um efeito inibitório 45
Figura 15: Co-regulação existente entre iNOs e COX-2..... 47
Figura 16: Modelo esquemático de alguns efeitos anti-inflamatórios exercidos pelos compostos fenólicos..... 48

Índice de Tabelas

Tabela 1: Perfil fenólico da maçã 13
Tabela 2: Perfil fenólico da pera 15
Tabela 3: Perfil fenólico da uva e seus derivados 17
Tabela 4: Perfil fenólico do marmelo 19
Tabela 5: Perfil fenólico do medronho 21
Tabela 6: Perfil fenólico do abrunho 23
Tabela 7: Perfil fenólico do figo 24
Tabela 8: Principais agentes de defesa antioxidante 30

Abreviaturas

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AMP	Adenosina monofosfato
AMPK	Proteína cinase ativada por AMP
ARN	Ácido ribonucleico
ATP	Adenosina trifosfato
ATPase	ATP monofosfatase
CDKs	Cinases dependentes da ciclina
COX	Cicloxigenase
CpG	Citosina-fosfato-guanina
CRP	Proteína C reativa (do inglês "C Reactive Protein")
CYP1A1	Citocromo P450 isoforma A1
CYP1B1	Citocromo P450 isoforma B1
DNMTs	ADN metiltransferases
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
EGFRs	Fator de crescimento epidérmico
HAT	Histona acetiltransferase
HDAC	Histona deacetilase
HDM	Histona demetilase
HMT	Histona metiltransferase
HSV	Herpes simplex vírus
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular-1
IFN-γ	Interferão-gama
IL	Interleucina
iNOS	Sintetase do monóxido de azoto do tipo indutível
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
$LO^{\bullet}$	Radical alcoxilo
$LOO^{\bullet}$	Radical peroxilo
LOOH	Hidroperóxido lipídico
LPS	Lipopolissacarídeo
MMPs	Metaloproteínases
mPTP	Poro de permeabilidade transitória mitocondrial
MRSA	*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

MSSA	*Staphylococcus aureus* sensível à meticilina
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NFκB	Fator nuclear kappa B (do inglês "Nuclear factor κB")
NO	Monóxido de azoto
Nrf2	Fator nuclear derivado de (eritróide2)-fator relacionado 2 (do inglês "Nuclear factor (erythroid-derived 2)-related factor 2")
8-OHG	8-hidroxiguanina
PDE	Fosfodiesterase
PDGFR	Recetor do fator de crescimento derivado das plaquetas (do inglêss "Platelet-derived growth factor" receptor)
PECAM-1	Molécula de adesão plaqueta-célula endotelial
PTK	Proteína tirosina cinase
ROS	Espécies reativas de oxigénio
SOD	Superóxido dismutase
SIRT 1	Sirtuína1
STK	Serina/Treonina cinase
TNFα	Fator de necrose tumoral alfa (do inglês "Tumor necrosis factor α")
UV	Ultravioleta
VEGF	Fator de crescimento vascular endotelial (do inglês "Vascular endothelial growth factor")
VIH	Vírus da imunodeficiência humana

I. INTRODUÇÃO

Os danos oxidativos de componetens celulares podem desempenhar um papel importante no desenvolvimento de muitas doenças crónicas humanas, como cancro e doenças cardiovasculares, estando igualmente envolvidos no envelhecimento precoce das células (Gómez-Serranillos *et al.*, 2009). Os danos oxidativos resultam quando ocorre um desequilíbrio entre a formação de espécies pró-oxidantes e a sua respetiva eliminação pelos sistemas de defesa, ou seja, quando o rácio de formação de pró-oxidantes é superior ao da sua eliminação ou neutralização. A remoção de radicais livres é, normalmente, realizada através de dois sistemas: o sistema enzimático e o sistema não enzimático, sendo este último o sistema que inclui os compostos antioxidantes obtidos exogenamente, nomeadamente os compostos fenólicos (Fang *et al.*, 2002).

A escolha de uma dieta variada, equilibrada e saudável traz benefícios para a saúde, uma vez que o consumo de alimentos ricos em vitaminas, fibras e compostos bioativos, está associada à prevenção do desenvolvimento de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas, doenças autoimunes, diabetes e cancro (Alarcón-Flores *et al*., 2013; Liu, 2013; McCarty, 2004; Pallauf *et al*., 2013; Zingg, 2007). Estes benefícios são normalmente atribuídos aos antioxidantes presentes nos géneros alimentícios, principalmente, às vitaminas C e E, aos carotenóides, aos ácidos fenólicos e flavonóides (Kim *et al*., 2002; Liu, 2013; Pallauf *et al*., 2013; Zingg, 2007).

Os compostos fenólicos possuem ação antioxidante através de diversos mecanismos, entre eles incluem-se a sua capacidade para a remoção de radicais livres e a inibição da formação de espécies reativas durante o curso normal do metabolismo, prevenindo a ocorrência de danos nos lípidos, proteínas e ácidos nucleicos e consequentes lesões celulares e morte (Zhang *et al.*, 2008). Estes compostos são metabolitos secundários amplamente distribuídos pelo reino *Plantae*. São conhecidos mais de 8.000 compostos fenólicos com estruturas químicas diferentes e, consequentemente, com atividades biológicas variadas (Yáñez *et al.*, 2004; Yazaki *et al.*, 2009).

II. COMPOSTOS POLIFENÓLICOS

Os compostos fenólicos ou polifenóis são um vasto grupo de fitoquímicos que se caracterizam por possuírem, pelo menos, um anel aromático ao qual se encontra ligado, a um ou mais grupos hidroxilo. A sua estrutura pode variar entre uma simples molécula fenólica a polímeros complexos de elevado peso molecular (Balange e Benjakul, 2009; Vaquero *et al.*, 2007). A maioria destes compostos ocorre naturalmente conjugados a mono- ou oligossacarídeos, ligados a um ou mais grupos fenólicos, podendo também ocorrer como derivados funcionais, como ésteres ou metilésteres (Balasundram *et al.*, 2006; Hurtado-Fernández *et al.*, 2010; Vichapong *et al.*, 2010).

Estes compostos são produzidos pela maioria das plantas como parte integrante da sua estrutura, os quais desempenham funções diversas, tais como funções estruturais nos tecidos de sustentação ou proteção, participando em estratégias de defesa contra ataques dos herbívoros e de agentes patogénicos, agentes protetores contra condições edafo-climáticas desfavoráveis, nomeadamente, temperatura extrema, stresse nutricional e hídrico, radiação ultravioleta (UV) e oxidação das biomoléculas. Estas suas funções devem-se essencialmente à sua capacidade antioxidante, ou seja, à sua capacidade de agir como agentes redutores, dadores de protões, sequestradores de radicais livres e supressores do anião superóxido (Boudet, 2007; Chunglong *et al.*, 2008).

Para além das funções supracitadas, estes compostos participam na reprodução e crescimento das plantas, bem como no desenvolvimento de pigmentos e compostos voláteis que estão diretamente interligados com as características organolépticas de cada planta. Desta forma, é correto salientar a importância dos compostos fenólicos no seu contributo para a estabilidade oxidativa e características organolépticas dos alimentos e bebidas provenientes do reino vegetal (Balasundram *et al.*, 2006; Boudet, 2007).

Os compostos fenólicos formam um dos mais vastos e ubíquos grupos de metabolitos das plantas. Apesar da sua ubiquidade, estes podem funcionar como biomarcadores para a determinação botânica e geográfica da origem das plantas,

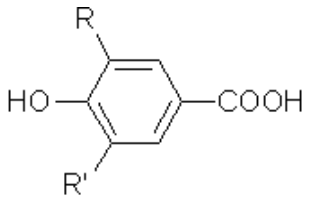
alimentos e bebidas. Não obstante, dentro de cada espécie, a natureza, quantidade e distribuição destes compostos depende essencialmente de dois tipos de fatores: os fatores biológicos e os fatores abióticos. Os fatores biológicos incluem a espécie botânica, o genótipo, as diferentes partes morfológicas da planta, bem como o seu estádio de desenvolvimento, enquanto os fatores abióticos incluem o estado dos nutrientes do solo, incidência solar, temperatura, pH do solo, disponibilidade da água, entre outros (Chunglong *et al.*; 2008; Shetty, 2004).

Tal como já foi anteriormente referido, os compostos fenólicos são metabolitos secundários, sintetizados pelas plantas através das vias pentose-fosfato, chiquimato e fenilpropanóide (Balasundram *et al.*, 2006), agrupando-se em 4 grupos principais: ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides e taninos (Balasundram *et al.*, 2006; Hurtado-Fernández *et al.*; 2010; Ryan *et al.*, 2002).

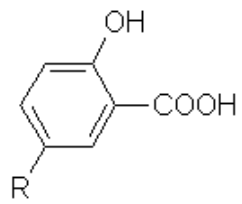
2.1 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos podem ser classificados segundo dois subgrupos, os ácidos hidroxibenzóicos e os ácidos hidroxicinâmicos, representando aproximadamente um terço dos compostos fenólicos obtidos na dieta alimentar (Andjelkovic *et al.*, 2006; Mattila *et al.*, 2007).

Os ácidos hidroxibenzóicos incluem o ácido gálhico, o *p*-hidroxibenzóico, o protocatéquico, o vanílico e o ácido siríngico, os quais apresentam a estrutura C_6-C_1 em comum (Figura 1).



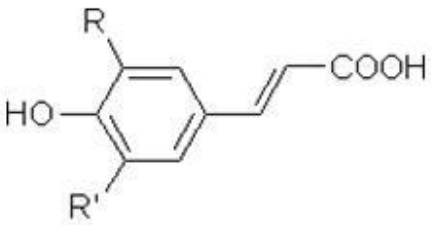
R = R' = H; ácido *p*-hidroxibenzóico
R = OH, R' = H; ácido protocatéquico
R = OCH_3, R' = H; ácido vanílico
R = R' = OH; ácido gálhico
R = R' = OCH_3; ácido siríngico



R = H; ácido salicílico (*o*-hidroxibenzóico)
R = OH; ácido gentísico

Figura 1: Estruturas químicas dos principais ácidos hidroxibenzóicos (retirado de Costa, 2009).

Por outro lado, os ácidos hidroxicinâmicos são compostos aromáticos que apresentam uma cadeia lateral de três carbonos, C_6-C_3, sendo os ácidos caféico, ferúlico, *p*-cumárico e sinápico os mais comuns (Figura 2) (Balasundram *et al.*, 2006; Mattila *et al.*, 2007; Saldaña *et al.*, 2007).



R = R' = H; ácido *p*-cumárico
R = OH, R' = H; ácido cafeico
R = OCH_3, R' = H; ácido ferúlico
R = R' = OCH_3; ácido sinápico

Figura 2: Estrutura química dos principais ácidos hidroxicinâmicos (retirado de Costa, 2009).

2.2 Cumarinas

As cumarinas e seus derivados hidroxilados são substâncias que ocorrem naturalmente numa ampla variedade de plantas, microrganismos e algumas espécies animais, tanto na forma livre como glicosilada. A classe das cumarinas compreende uma vasta quantidade de benzo-α-piranos com importantes e diversas atividades fisiológicas (Born *et al.*, 2003; Lake, 1999). Atualmente, mais de 1.300 cumarinas já foram identificadas e extraídas de fontes naturais, especialmente em plantas verdes. A sua distribuição nas diferentes partes da planta é muito heterogénea, no entanto, a sua concentração é superior nas folhas e nos frutos, seguido dos caules e raízes, respetivamente. As propriedades farmacológicas, bioquímicas e aplicações terapêuticas das cumarinas simples dependem dos seus padrões de substituição na sua estrutura química. O composto base, a cumarina (Figura 3) surge em diversas plantas, especiarias

e produtos alimentares tais como, canela, chá verde, hortelã-pimenta, mirtilo, lavanda, cenoura, bem como em alimentos fermentados, como a cerveja e o vinho (Sproll *et al.*, 2008).

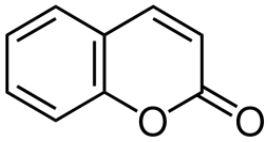


Figura 3: Estrutura da cumarina (retirado de Born *et al.*, 2003).

2.3 Flavonóides

Os flavonóides são a maior classe de compostos fenólicos presentes nas plantas, tendo sido identificados mais de quatro mil compostos dentro das principais classes (Wiseman, 2013). Estes compreendem um extenso grupo de substâncias que ocorrem naturalmente podendo ser encontrados em todas as partes de uma planta (Cassidy e Kay, 2013). Estes fitoquímicos são também ubíquos nos frutos, vegetais, assim como em produtos alimentares, caso do azeite (Bakhouche *et al.*, 2013; Vinha *et al.*, 2005) e bebidas derivadas de plantas, como infusões (Friedman, 2007) e vinho tinto (Georgiev *et al.*, 2014).

Os flavonóides são moléculas de baixo peso molecular, consistindo em 15 átomos de carbono, organizados numa configuração de C_6-C_3-C_6. São compostos tricíclicos possuindo dois anéis aromáticos (anéis A e B), ligados por uma cadeia alifática de 3 carbonos, a qual normalmente encontra-se condensada na forma de um pirano, o anel C (Figura 4) (Heim *et al.*, 2002; Peterson e Dwyer, 1998). Na natureza podem-se encontrar cerca de 4 mil compostos, em que a sua caracterização ocorre a partir da sua estrutura química, principalmente a partir do seu grau de oxidação presente no anel C. Apesar do nome flavonóides ter origem do latim de *flavus*, que significa amarelo, os flavonóides geralmente são incolores e às vezes podem potenciar a coloração das plantas dentro da gama do verde até ao azul.

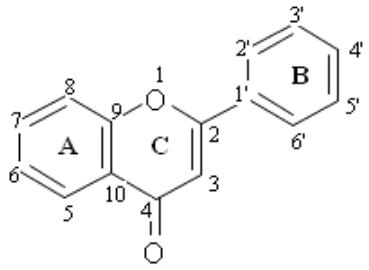


Figura 4: Estrutura base dos flavonóides (retirado de Costa, 2009).

Os flavonóides, ao contrário dos ácidos fenólicos, apresentam uma biossíntese mista: o anel aromático A, deriva da via acetato, enquanto os anéis B e C são sintetizados pela via chiquimato (Costa, 2009).

Ainda dentro do grupo, os flavonóides podem ser ordenados em 14 classes de diferentes compostos de acordo com o padrão de oxidação e da substituição do anel central C, sendo 10 classes principais (Figura 5) as que habitualmente concentram-se em maiores quantidades nos alimentos integrantes da dieta alimentar (Cook *et al.*, 1996).

- As flavonas que se caracterizam pela presença no anel C de uma ligação dupla entre as posições 2 e 3, e o grupo carbonilo na posição 4. Estas são menos comuns que outros flavonóides mas são vulgarmente encontradas na pimenta doce vermelha e no aipo bem como em ervas, grãos e cereais (Heim *et al.*, 2002; Hodek *et al*., 2002; Peterson e Dwyer, 1998);

- As isoflavonas apresentam um grupo carbonilo na posição 4 e o anel aromático B encontra-se ligado a restante molécula pelo carbono da posição 3, existindo ainda uma dupla ligação no anel central entre os carbonos 2 e 3. Estas apresentam uma estrutura semelhante à dos estrogénios podendo desta forma ligar-se aos recetores e funcionar como fitoestrogénios, sendo encontradas quase exclusivamente em leguminosas como o caso da soja (Heim *et al.*, 2002; Hodek *et al*., 2002; Peterson e Dwyer, 1998);

- As flavanonas que se distinguem pela presença de um grupo carbonilo na posição 4 do anel pirano e pela ausência da dupla ligação entre os carbonos 2 e 3, são encontradas

essencialmente nos frutos cítricos (Heim *et al.*, 2002; Hodek *et al*., 2002; Peterson e Dwyer, 1998);

- Os flavonóis que possuem um grupo hidroxilo na posição 3 do anel C, sendo a quercetina e o canferol os principais flavonóis da dieta humana, encontram-se em todos os frutos e legumes, casos da maçã e amoras bem como em brócolos e alface (Heim *et al.*, 2002; Peterson e Dwyer, 1998);

- Os dihidroflavonóis caracterizados pela presença de um grupo hidroxilo na posição 3 num anel C, sem a ligação dupla entre 2 e 3, ocorrem geralmente em plantas, como por exemplo o cardo mariano e a cebola roxa (Batra e Sharma, 2013);

- Os 3-flavanóis, também conhecidos como catequinas, diferenciam-se pela presença de um anel C sem grupo carbonilo em 4 e dupla ligação entre 2 e 3, possuindo ainda um grupo hidroxilo no carbono 3. Encontram-se essencialmente em bebidas, caso do chá verde e do vinho tinto, mas também em frutos como o damasco e o pêssego (Heim *et al.*, 2002; Peterson e Dwyer, 1998).

- Os 3,4-flavanodióis possuem as mesmas características que as catequinas apresentando ainda um grupo hidroxilo extra ligado ao carbono 4;

- As chalconas, que se caracterizam por um sistema central enona com dois anéis aromáticos laterais, são facilmente encontrados em algumas plantas, como o lúpulo e alcaçuz, e em frutos como a polpa de maçã (Balasundram *et al*., 2006; Detsi *et al*., 2009; Nowakowska, 2007);

- As auronas, classe de flavonóides menos estudada e de ocorrência menor na natureza, são distinguidas pela presença de um benzofurano que se encontra ligado pelo carbono da posição 2 a um benzilideno. São responsáveis pela cor amarela brilhante em algumas plantas ornamentais e são encontrados em algas marinhas castanhas, alguns fetos e musgos (Detsi *et al*., 2009);

- As antocianidinas diferenciadas pelas suas duas ligações duplas, uma entre o átomo de oxigénio e o carbono 2 e a outra entre os carbonos 3 e 4, apresentam também um grupo hidroxilo diretamente ligado ao carbono 3. Estes compostos apresentam uma coloração vermelha ou azul, dependendo do pH do meio, estando presente em frutos como as amoras, cerejas e ameixas (Heim *et al.*, 2002; Peterson e Dwyer, 1998).

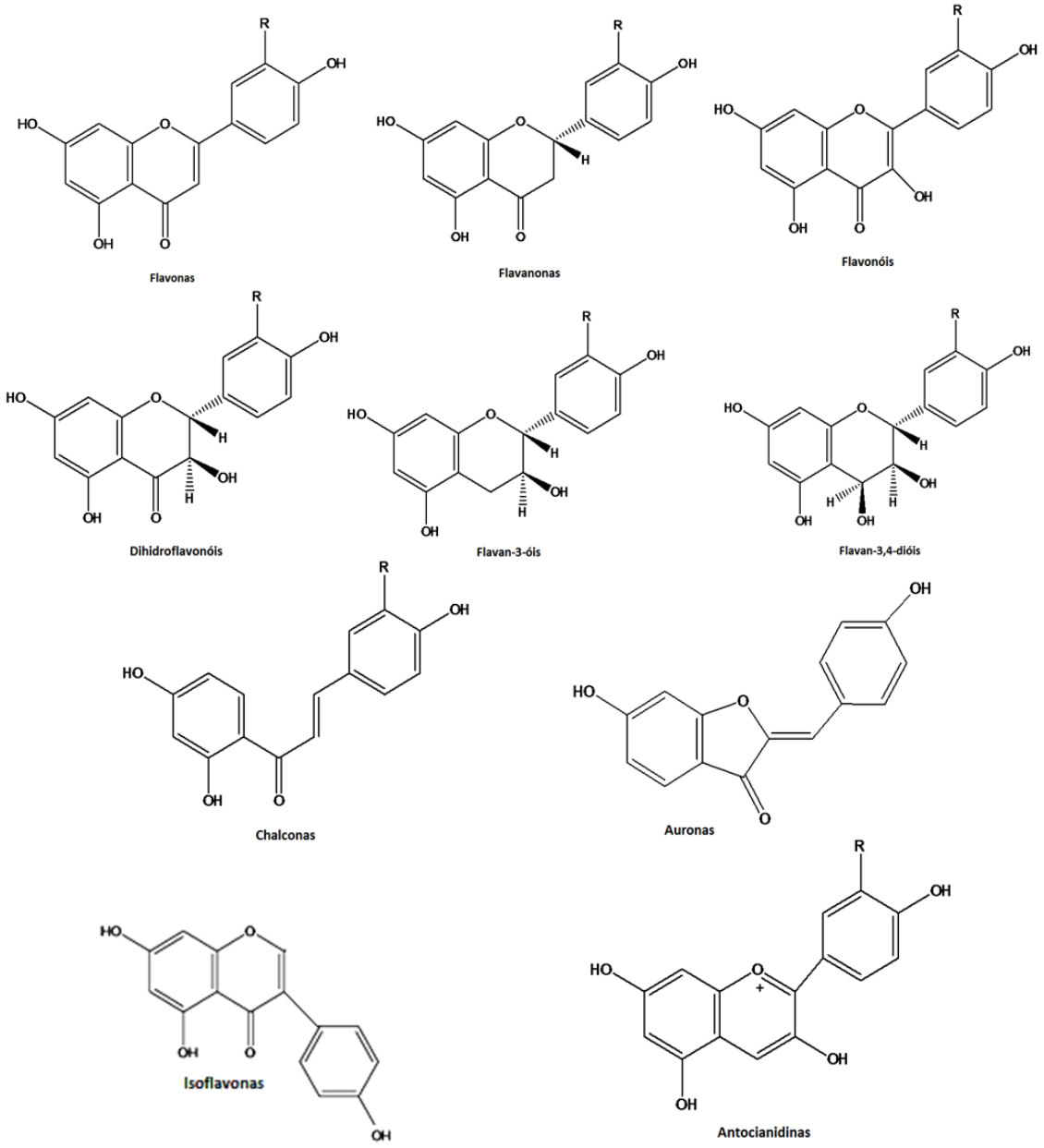


Figura 5: Estruturas das 10 principais classes de flavonóides (adaptado de Moderno *et al.*, 2009).

Os flavonóides encontram-se geralmente sobre a forma heterosídica, ou seja, ligados quimicamente a açúcares. Estes podem ser do tipo *O*-heterósidos, no caso de a ligação ocorrer entre um grupo hidroxilo da genina e o açúcar, e *C*-heterósidos, ocorrendo ligação do tipo carbono-carbono entre o carbono 6 ou 8 da genina e o açúcar, sendo estes últimos de ocorrência menos frequente (Costa, 2009). Por outro lado, é de salientar que as catequinas, ao contrário dos outros flavonóides, encontram-se maioritariamente sob a forma de aglícona (Peterson e Dwyer, 1998, Williams *et al.*, 2004).

2.4 Taninos

Os taninos são um grupo complexo de metabolitos secundários solúveis em soluções polares e distribuídos pelas plantas vasculares, ocorrendo em concentrações elevadas nos diversos tecidos vegetais. O termo taninos engloba um vasto conjunto de polímeros de peso molecular e estrutura variada sendo, no entanto, divididos em duas classes, os taninos hidrolisados (Figura 6) e os taninos condensados (Figura 7) (Elizondo *et al.*, 2010, Özacar e Şengil, 2000).

Os taninos hidrolisados consistem em moléculas de monossacarídeos (polihidroxilados) esterificados quer pelo ácido gálhico, no caso dos galhotaninos, quer pelo ácido elágico, no caso dos elagitaninos. Os taninos hidrolisados são encontrados unicamente em plantas dicotiledóneas, caracterizadas por possuírem sementes cujo embrião inclui dois cotiledónes (Özacar e Şengil, 2000; Silanikove *et al.*, 2001). As dicotiledóneas incluem numerosas árvores florestais, como por exemplo, carvalhos, faias, ulmeiros, árvores de fruto, plantas edíveis, como a batateira, a ervilheira e o tomateiro, e plantas ornamentais como a roseira entre outras.

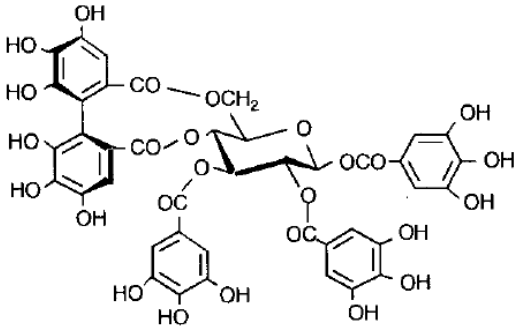


Figura 6: Estrutura de um tanino hidrolisado, concretamente o elagitanino telimagrandina II (adaptado de Funatogawa *et al.*, 2004).

Um derivado do grupo dos flavonoides, os flavan-3-ois, são provavelmente os mais abundantes constituindo a unidade fundamental das proantocianidinas - taninos condensados Estes compostos abrangem um grupo de oligómeros e polímeros de catequinas e seus ésteres de galhato, ligados através de ligações carbono-carbono. Esta ligação ocorre maioritariamente entre C4 e C8 podendo, no entanto, ocorrer entre C4 e C6 (Hoong *et al.*, 2010; Schofield *et al.*, 2001). Esta classe é maioritariamente encontrada em plantas angiospérmicas e gimnospérmicas (Silanikove *et al.*, 2001).

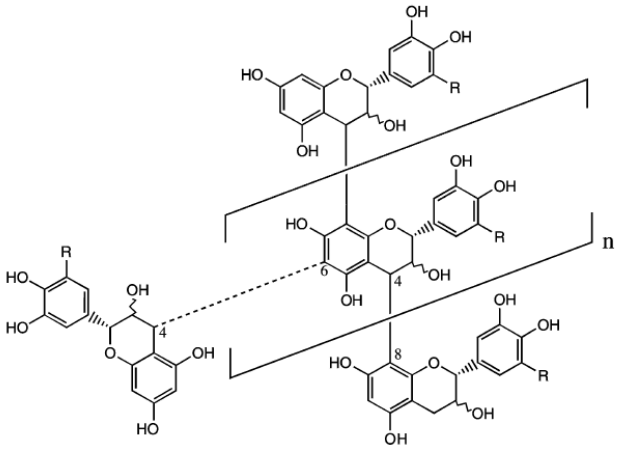


Figura 7: Estrutura de um tanino condensado (adaptado de Schofield *et al.*, 2001).

III. FRUTOS NACIONAIS E SUA CARACTERIZAÇÃO FENÓLICA

Os compostos fenólicos encontram-se distribuídos de forma ubíqua nos frutos, influenciando as suas propriedades químicas e organolépticas. Estes podem funcionar como marcadores biológicos uma vez que ocorrem em função da espécie, da variedade, das condições de crescimento, do grau de amadurecimento e armazenamento, entre outros (Oliveira *et al.*, 2009; Salta *et al*., 2010; Silva *et al*., 2002).

Segundo o Instituto Nacional de Estatística (INE, 2013), a maçã, a pera e as uvas de mesa, representam alguns dos frutos mais consumidos pelos portugueses. Por esse motivo, neste trabalho efectuou-se uma pesquisa bibliográfica exaustiva sobre o perfil fenólico dos mesmos, dado a representatividade que estes frutos desempenham na dieta da população portuguesa. Por outro lado serão aqui abordados outros frutos de origem nacional, que embora a sua valorização a nível de consumo e até económica seja ainda reduzida, no entanto, considera-se importante a sua divulgação para potenciar a sua valorização. De entre muitos, escolheu-se o marmelo, o medronho, o abrunho e o figo.

3.1. Frutos característicos da dieta dos portugueses

3.1.1. Maçã

A maçã, pseudofruto pomáceo da macieira, pertence à família Rosacea. Este fruto possui uma composição química e nutricional variada e equilibrada, sendo constituída por mais de 84% de água na qual se encontra diluída diversos minerais. É também conhecida como uma fonte de vitaminas, essencialmente do complexo B, fibras e lenhinas (Feliciano *et al*., 2010).

Esta é um dos principais frutos consumidos a nível mundial, sendo que em 2013 foram consumidos em Portugal uma média de 23,7 Kg por habitante, representando um

consumo muito superior ao segundo fruto mais consumido em Portugal, as laranjas (INE, 2013). O seu consumo tem sido associado a dietas de controlo de peso, bem como à diminuição do desenvolvimento de certas doenças, como cardiovasculares, disfunções pulmonares e vários cancros, particularmente o da próstata, fígado, cólon e pulmão. Tais atividades contudo não podem ser somente explicadas pelos elevados níveis de vitaminas e fibras, sendo reconhecido o papel dos compostos fenólicos da maçã na sua atividade antioxidante e por conseguinte nos seus efeitos benéficos (Feliciano *et al*., 2010).

Em Portugal existem muitas variedades tradicionais, como por exemplo, Bravo de Esmolfe, Malápio Fino, Malápio Serra e Pêro Pipo, no entanto, algumas variedades exóticas, como Golden, Starking, Fuji, Reineta Parda e Gala Galaxy incluem-se nos hábitos alimentares da população portuguesa (Feliciano *et al*., 2010).

A maçã possui uma composição heterogénea de compostos fenólicos (Tabela 1), cujos compostos maioritários são a catequina, a epicatequina, o ácido clorogénico, as procianididas B1 e B2 e a floridizina (Feliciano *et al*., 2010). A floridizina é um polifenol natural da fruta, presente em quantidades consideráveis na maçã e que está associado à inibição do transporte de glucose no organismo. A maçã é conhecida como um desintoxicante natural, capaz de revitalizar o corpo através da redução do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e cancro. Também estão descritos outras propriedades, tais como adjuvante no tratamento da diabetes, na prevenção da osteoporose, no alívio dos sintomas da menopausa e na promoção da síntese de colagénio (Khanizadeh *et al*., 2008).

De entre os compostos fenólicos referidos na tabela 2, destacam-se a quercetina, um flavonoide que estimula a produção de osteoblastos e a diminuição dos osteoclastos, apresentando ações anti-inflamatórias que auxiliam no tratamento da artrite reumatoide e a floridizina, inibidor competitivo da glicose que promove a diminuição da sua absorção. Alguns estudos também referem que este composto quando associado à genistina (isoflavona) torna-se eficaz no tratamento dos sintomas da menopausa (Khanizadeh *et al*., 2008).

No entanto, o efeito sinérgico dos compostos fenólicos potencia os seus efeitos benéficos para a saúde. Sabe-se que a floridizina e a quercetina em conjunto inibem a diferenciação dos pré-adipócitos, evitando o armazenamento da gordura (Khanizadeh *et al*., 2008).

Tabela 1- Perfil fenólico da maçã. Adaptado de Feliciano *et al*., (2010).

Classe de Compostos Fenólicos	**Compostos Fenólicos**
Ácidos Hidroxicinâmicos	Ácido clorogénico
Flavanóis	Catequina Epicatequina
Procianidinas	Procianidina B1 Procianidina B2
Flavonóis	Quercetina-3-glucósido Canferol-3-glucósido Quercetina-3-ramnósido
Chalconas	Floridizina

Os dados obtidos em literatura permitem concluir que, de uma maneira geral, a maçã, independentemente das variedades, é uma fonte rica em compostos fenólicos. No entanto, Feliciano *et al*. (2010) refere que as variedades tradicionais apresentam maior quantidade de polifenóis do que a encontrada nas variedades exóticas, uma vez que, com a exceção da floridizina que apresenta uma concentração muito superior nas maçãs Reineta Parda, a média dos compostos fenólicos nas variedades tradicionais é igual ou superior a das exóticas. Para além deste facto as variedades tradicionais são ainda conhecidas por apresentarem melhores características organolépticas (odor, sabor, dureza e suculência) (Feliciano *et al*., 2010).

3.1.2. Pera

A pera é o fruto comestível da pereira, uma árvore do género *Pyrus* L., da família Rosaceae. Trata-se de um fruto típico das zonas temperadas, sendo cultivada na Europa. Este é um fruto de baixo teor calórico, possuindo uma baixa quantidade de proteínas e lípidos e rico em açúcares, como a frutose, o sorbitol, a sacarose e, em menor quantidade, a glicose (Barroca *et al*., 2006).

A produção da pera representa uma atividade económica importante para Portugal (cerca de 190 mil toneladas por ano), sendo a cultivar *Rocha* uma variedade exclusiva portuguesa, correspondendo a 95% da produção nacional e estando concentrada principalmente na região Oeste do país (Salta *et al*., 2010). Este é o quarto fruto mais consumido em Portugal, tendo sido consumido em 2013 uma média de 5,5 Kg por habitante (INE, 2013).

A pera apresenta maioritariamente compostos fenólicos pertencentes às classes dos ácidos hidroxicinâmicos e hidroxibenzóicos, nomeadamente o ácido clorogénico, ácido siríngico e ácido ferúlico e a catequina (Salta *et al*., 2010). Tal como acontece na maçã, este fruto tem ainda um biomarcador químico, neste caso concreto, a arbutina. A arbutina é um derivado da hidroquinona, conhecido na área da dermocosmética pelas suas propriedades despigmentantes. No entanto, a nível da indústria alimentar este composto usado como marcador químico na avaliação de adulterações ou falsificações em alimentos (Silva *et al*., 2002).

O perfil fenólico da pera foi avaliado e a sua caracterização está apresentada na Tabela 2.

Tabela 2- Perfil fenólico da pera. Adaptado de Salta *et al*., (2010).

Classe de Compostos Fenólicos	Compostos Fenólicos
Flavanóis	Catequina Epicatequina
Ácidos Hidroxibenzóicos	Ácido gálhico Ácido siríngico
Ácidos Hidroxicinâmicos	Ácido cafeico Ácido *p*-cumárico Ácido ferúlico Ácido clorogénico
Quinonas	Arbutina

A composição fenólica das diferentes variedades de pera é variável. No entanto, Salta *et al*. (2010) considerou a variedade *Rocha* (nacional) como a variedade que apresenta o conteúdo mais elevado de fenóis totais, particularmente, o maio teor dos ácidos clorogénico, siríngico, ferúlico e *p*-cumárico. A hidroquinona arbutina, embora sendo um marcador químico do género *Pyrus* L. também apresenta teores mais elevados nessa variedade. Segundo o mesmo autor, num estudo comparativo entre diferentes variedades de pera, provou que a variedade *Rocha* é a única que apresenta epicatequina em concentrações detetáveis. Estas características aliadas ao sabor único, tornam esta variedade numa fonte promissora de antioxidantes naturais, bem como a sua produção e comercialização como um alimento funcional uma boa forma de aumentar os benefícios para a saúde e a agricultura sustentável (Salta *et al.*, 2010).

3.1.3. Uva

Vitis vinifera é a espécie de videira (*Vitis* spp.) mais cultivada para a produção do vinho na Europa. A videira, da família das vitáceas, cujo fruto é a uva, é uma das culturas de fruta economicamente mais importante e amplamente cultivadas em todo o mundo. O total de terra cultivável para a produção de uva é de aproximadamente 8 milhões de hectares, tendo sido produzido uma média de 68,9 milhões de toneladas em 2006 (Ali *et al*., 2011). Em Portugal são consumidos cerca de 5,1 Kg por habitante de uva de mesa, o quinto fruto mais consumido, e uma média de 40,9 L de vinho (INE, 2013).

A uva é usada na alimentação como fruta fresca ou seca, e mais importante na produção de vinho. Cerca de 71% da sua produção total é transformada em vinho, um produto com um valor económico muito superior ao da uva. Para além desse facto, o consumo da uva e de vinho tem sido ainda associado a um número crescente de benefícios para a saúde, exibindo atividades antioxidante, cardioprotetora, anti-inflamatória e anticancerígena. Tais atividades estão intimamente relacionadas com os polifenóis presentes na uva (Ali *et al*., 2011; Ramos *et al*., 1999).

Os compostos fenólicos da uva são ainda importantes pela sua contribuição nas características organoléticas dos vinhos, na cor, adstringência, amargor e na interação com as proteínas durante o processo de oxidação do vinho. As suas concentrações e distribuição na uva são fortemente influenciadas pela casta, pelo rendimento da planta, origem geográfica, solo, condições climatéricas, bem como o estado de maturação do fruto (Perestrelo *et al*., 2012). O perfil fenólico das uvas é apresentando na Tabela 3.

Tabela 3- Perfil fenólico da uva.

	Classe de Compostos Fenólicos									
	Antocianinas	**Procianidinas**	**Catequinas**	**Flavonóis**	**Flavonóis**	**Flavanonas**	**Estilbenos**	**Acidos Hidroxicinâmicos**	**Acidos Hidroxibenzóicos**	
Compostos Fenólicos	Cianidina-3-*O*-glucósido[4] Malvidina-3-*O*-glucósido[4] Delfidina-3-*O*-glucósido[4] Peonidina-3-*O*-glucósido[4] Petunidina-3-*O*-glucósido[4] Petunidina-acetilglucósido[5] Peonidina-3-acetilglucósido[7] Delfidina-acetilglucósido[5] Malvidina-acetilglucósido[5] Peonidina-3-(6-*O*-*p*-cumaroil) glucósido[4] Malvidina-3-(6-*O*-cumaroil) glucósido[5] Delfidina-cumaroilglucósido[5] Petunidina-3-*p*-cumaroilglucósido[4]	Procianidina B1[8] Proacianidina B2[8] Procianidina B3[8]* Procianidina B4[8] Procianidina T2[8] Procianidina C1[8] Procianidina B1-*O*-galhato[8] Procianidina B2-*O*-galhato[8]	Catequina[1] Epicatequina[1] Epigalhocatequina[3]	Miricetina[1] Canferol[9] Quercetina[3] Isoramnetina[9]	Quercetina-3-*O*-glucósido[1] Quercetina-3-*O*-glucoronídeo[3] Quercetina-3-*O*-rutinósido[3] Quercetina-3-*O*-galactósido[4] Canferol-3-glucósido[2] Canferol-3-rutinósido[2] Miricetina-3-*O*-glucósido[2] Isoramnetina-3-glucósido[2] Laricitrina-3-*O*-glucósido[4] Siringetina-3-*O*-glucósido[4]	Taxifolina[5] Taxifolina-pentósido[5] Naringenina[5] Eriodictiol-glucósido[5]	*Trans*-resveratrol[3] *Cis*-resveratrol[3] *Trans*-resveratrol-3-*O*-glucósido[3] *Cis*-resveratrol-3-*O*-glucósido[3]	Acido cafeico[3] Ácido *p*-cumárico[2] Ácido *trans*-cafeoiltartárico[2] Ácido *trans*-cumaroiltartárico[2] Ácido ferúlico[2] Ácido *trans*-fertárico[1] Ácido *cis*-cafeoiltartárico[1] Ácido *cis*-*p*-cumaroiltartárico[1] Ácido 3-*O*-cafeoil chiquímico[5] Acido trans-cinâmico[5] Ácido sinapínico[6]	Acido protocatequínico[3] Ácido gálhico[1] Ácido siríngico[1] Ácido vanílico[1] Ácido *p*-hidroxibenzóico[3] Ácido 2,3-dihidroxibenzóico[9]	Acido elágico[6]

Adaptado de [1]Ali *et al.*, (2011); [2]Andrade *et al.*, (2001); [3]Bravo *et al.*, (2006); [4]Dospico-García *et al.*, (2008); [5]Perestrelo *et al.*, (2012); [6]Ramos *et al.*, (1999); [7]Castillo-Sánchez *et al.*, (2008); [8]Silva *et al.*, (2005); [9]Perestrelo *et al.*, (2012).

A uva vermelha apresenta como compostos fenólicos mais abundantes, as catequinas, os flavonóis mas principalmente as antocianinas, onde se destacam os 3-glicosídeos, 3-acetilglicosídeos e 3-*p*-cumaroilglicosídeos da malvidina, da peonidina, da delfinina, petunidina e cianidina (Luque-Rodríguez *et al*., 2007; Novak *et al*., 2008). No caso das uvas brancas, pela ausência da coloração vermelha/roxa, as antocianinas encontram-se em níveis muito menores, sendo por isso os ácidos hidroxicinâmicos e os flavonóis as classes de compostos fenólicos mais abundantes (Perestrelo *et al*., 2012).

Estão ainda presentes nas uvas os estilbenos e os ésteres tartáricos de ácidos hidroxicinâmicos, sendo que estes últimos podem funcionar como marcadores biológicos para a sua presença em derivados de frutos (Simón *et al*., 1992).

3.2. Outros frutos característicos de Portugal

3.2.1. Marmelo

O marmelo é o fruto do marmeleiro (*Cydonia oblonga*), árvore pequena e único membro do género *Cydonia*, da família Rosaceae. Este é geralmente consumido cozinhado na forma de geleias ou compotas (marmelada), devido à sua dureza, amargor e adstringência quando cru. A marmelada, segundo a Legislação Portuguesa, deve consistir na compota obtida pela fervura da mistura exclusiva do mesocarpo do marmelo com açúcar (Silva *et al*., 2005).

No que se refere à composição química deste fruto, poder-se-á dizer que o marmelo é um fruto pouco calórico, com baixo teor de açúcares. Apresenta elevados níveis de minerais, destacando-se o potássio (benéfico para contrações musculares e sistema nervoso) e o cálcio. No entanto, é o seu elevado teor de fibras, concretamente

pectinas e mucilagens e de taninos que promovem os seus efeitos biológicos. Também neste fruto são realçados os teores de ácidos orgânicos, especialmente, o ácido málico que ajuda a baixar os níveis de ácido úrico (Silva *et al*., 2005).

Pelos motivos supracitados, poder-se-á resumir que o interesse terapêutico deste fruto incide no combate de diarreias, na regulação do aparelho digestivo e no bom funcionamento hepático (Silva *et al*., 2005).

O marmelo é também conhecido como uma fonte rica em compostos fenólicos (Tabela 4).

Tabela 4- Perfil fenólico do marmelo. Adaptado de Silva *et al*., (2005).

Classe de Compostos Fenólicos	Compostos Fenólicos
Ácidos Hidroxicinâmicos	Ácido 3-cafeoilquínico
	Ácido 4-cafeoilquínico
	Ácido 5-cafeoilquínico
	Ácidos 3,5-dicafeoilquínico
Flavonóis	Quercetina-3-rutinósido
	Quercetina-3-galactósido

O marmelo tem como classe maioritária os ácidos hidroxicinâmicos, onde os compostos presentes em maior quantidade são o ácido 5-cafeoilquínico e o ácido 3-cafeoilquínico. Por outro lado, é do conhecimento geral que a casca do marmelo apresenta uma quantidade superior destes compostos, sendo os flavonóis como os glicosídeos e rutinósidos de quercetina e canferol, um meio de controlar a adição da casca do marmelo à produção de marmelada (Silva *et al*., 2004; Silva *et al*., 2005).

Na avaliação da autenticidade dos compostos derivados do marmelo, recorre-se usualmente a avaliação da presença dos marcadores químicos da maçã e da pera, floridizina e arbutina respetivamente, uma vez que estes são os frutos mais utilizados na sua adulteração. Adicionalmente, recorre-se ainda a quantificação do ácido 3-cafeoilquínico, uma vez que este se apresenta em maior quantidade (aproximadamente 23,4%) no puré de marmelo, enquanto no puré de pera só contém 8,2%, estando ausente no puré da maçã (Andrade *et al*., 1998).

3.2.2. Medronho

Arbutus unedo L. é um arbusto típico da região do Mediterrâneo pertencente à família das *Ericaceae*. Este arbusto produz umas bagas esféricas vermelhas (medronho) que, quando maduras, tanto podem ser consumidas cruas como fermentadas, processadas em licores, compotas e geleias (Guimarães *et al*., 2013; Pimpão *et al*., 2013).

O medronho é uma boa fonte natural de açúcares, minerais, vitaminas, carotenoides, ácidos orgânicos e compostos fenólicos, sendo os mais descritos em literatura as proantocianidinas, os flavonóides e os ácidos fenólicos, sendo que estes últimos encontram-se maioritariamente glicosilados ou esterificados com ácidos orgânicos (Pimpão *et al*., 2013). Desta forma o perfil fenólico do medronho foi avaliado por Guimarães et al. (2013) e os compostos apresentam-se na tabela seguinte (Tabela 5).

Tabela 5- Perfil fenólico do medronho. Adaptado de Guimarães *et al*., (2013).

Classe de Compostos Fenólicos	Compostos Fenólicos
Ácidos Hidroxibenzóicos	Ácido galhoilquínico
	Ácido galhoilchiquímico
	Ácido digalhoilquínico
	Ácido digalhoilquínico chiquímico
Proantocianidinas	Ácido galhoilhexósido
	Estrictinina
	Galhocatequina-catequina
	Procianidina B1
	Trímero procianidina tipo B
	Tetrâmero procianidina tipo B
Catequinas	Catequina
Antocianinas	Delfidina-3-*O*-glucósido
	Cianidina-3-*O*-glucósido
	Cianidina-3-*O*-pentósido
Flavonóis	Quercetina-galhoilhexósido
	Miricetina-ramnósido
	Quercetina-3-*O*-rutinósido
	Canferol-hexósido
	Quercetina-3-*O*-glucósido
	Quercetina-pentósido
	Quercetina-ramnósido

O medronho apresenta como compostos fenólicos mais abundantes os flavonóis, particularmente o glucósido e o ramnósido da quercetina, o ácido galhoilquínico, a procianidina B1 e particularmente a catequina, sendo este último o composto fenólico presente em maior concentração. Por outro lado, estão também presentes as antocianinas, nas quais a cianidina-3-*O*-glucósido é a mais abundante (Guimarães *et al*., 2013).

3.2.3. Abrunho

O abrunheiro-bravo (*Prunus spinosa* L.), família das Rosaceae é um arbusto caduco que cresce em encostas de vastas áreas não cultivadas, formando uma massa espessa espinhosa, bem como nas orlas de estradas, ao longo de canais e em barreiras contra o vento (Veličković *et al*., 2014). O seu fruto, o abrunho, é habitualmente consumido cru, mas também processado em compotas ou macerado com açúcar, mel e brandy para a obtenção de um licor digestivo e laxativo, geralmente bebido após refeições abundantes. Este é também utilizado como adstringente, diurético e purgativo (Guimarães *et al*., 2013).

O abrunho pode ser também uma fonte natural de compostos fenólicos, desta forma o seu perfil está resumido na Tabela 6.

O abrunho possui maioritariamente compostos fenólicos das classes dos ácidos hidroxicinâmicos, particularmente o ácido clorogénico, dos flavonóis, onde se destaca a quercetina-3-*O*-rutinósido, e principalmente as antocianinas, onde os rutinósidos da cianidina e da peonidina estão presentes em maior quantidade (Guimarães *et al*., 2013).

Tabela 6- Perfil fenólico do abrunho. Adaptado de Guimarães *et al*., (2013).

Classe de Compostos Fenólicos	Compostos Fenólicos
Ácidos Hidroxicinâmicos	Ácido clorogénico
	Ácido 3-*p*-coumaroilquiníco
	Ácido 4-*O*-cafeoilquiníco
	Ácido 4-*p*-coumaroilquiníco
Ácidos Hidroxicinâmicos	Ácido 3-*O*-feruloilquiníco
	Cafeoil-hexósido
Flavonas	Apigenina-pentósido
Flavonóis	Quercetina-pentosilhexósido
	Quercetina-ramnosilhexósido
	Quercetina-3-*O*-rutinósido
	Quercetina-pentosilhexósido
	Quercetina-3-*O*-glucósido
	Quercetina-hexósido
	Canferol-3-*O*-rutinósido
	Quercetina-hexosilramnósido
	Quercetina-pentósido
	Isoramnetina-3-*O*-rutinósido
	Quercetina-ramnósido
	Quercetina-acetilhexósido
	Quercetina-acetilrutinósido
	Miricetina
Antocianinas	Cianidina-3-*O*-glucósido
	Cianidina-3-*O*-rutinósido
	Peonidina-3-*O*-glucósido
	Peonidina-3-*O*-rutinósido
	Cianidina-3-*O*-pentósido
	Peonidina-3-*O*-pentósido
	Cianidina-3-*O*-acetilglucósido
	Peonidina-3-*O*-acetilglucósido

3.2.4. Figo

A figueira (*Ficus carica* L.) é uma árvore de folha caduca, pertencente a família *Moraceae*, sendo uma das mais antigas árvores de fruto cultivada. Os seus frutos, os figos, são consumidos frescos, secos ou sobre a forma de compotas. Estes têm sido utilizados tradicionalmente pelas suas ações laxantes, antiespasmódicas e anti-inflamatórias, bem como pelos seus benefícios nos sistemas cardiovasculares e respiratórios (Oliveira *et al*., 2009).

Os figos são uma excelente fonte de minerais, vitaminas, aminoácidos e fibras, não contendo, por outro lado, gordura e colesterol. Têm também sido descritos na polpa e pele deste fruto diversos compostos fenólicos, fitoesteróis e ácidos gordos (Oliveira *et al*., 2009). Desta forma o seu perfil fenólico apresentado na Tabela 7 inclui a caracterização fenólica das duas variedades portuguesas: Pingo de Mel e a Branca Tradicional.

Tabela 7- Perfil fenólico do figo. Adaptado de Oliveira *et al*., (2009).

Classe de Compostos Fenólicos	Compostos Fenólicos
Ácidos Hidroxicinâmicos	Ácido clorogénico
	Ácido 5-*O*-cafeoilquiníco
	Ácido ferúlico
Flavonóis	Quercetina-3-*O*-glucósido
	Quercetina-3-*O*-rutinósido
Cumarinas	Psoraleno
	5-metoxipsoraleno

O figo apresenta como compostos fenólicos principais os flavonóis, sendo a quercetina-3-*O*-rutinósido o composto presente em maior concentração nas duas variedades de figo. Por outro lado, a variedade Pingo de Mel apresentam ainda uma quantidade considerável de ácidos hidroxicinâmicos, particularmente o ácido 5-*O*-cafeoilquiníco, enquanto no caso da variedade Branca Tradicional as cumarinas,

principalmente o psoraleno são os segundos compostos que merecem maior destaque (Oliveira *et al*., 2009).

IV. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS POLIFENÓIS

Os polifenóis têm vindo a despertar nas últimas décadas um grande interesse por parte da comunidade científica, nas indústrias alimentares e farmacêutica e até nos consumidores que mostram maior interesse pelas atividades biológicas que estes compostos apresentam. Este interesse surgiu devido a inúmeros razões, nomeadamente aos efeitos benéficos comprovados para a saúde e consequente prevenção de várias doenças. Nos últimos anos muitos estudos confirmaram o benefício dos polifenóis, nomeadamente pelas suas atividades antioxidantes, anticarcinogénicas, antienvelhecimento e antimicrobiana, bem como, efeito cardioprotetor e propriedades anti-inflamatórias (Alarcón-Flores *et al*., 2013; Hurtado-Fernández *et al.*, 2010; Liu, 2013; Orak, 2007; Shetty, 2004; Vichapong *et al.*, 2010; Wiseman, 2013).

4.1 Danificação oxidativa

4.1.1 Stresse oxidativo

O equilíbrio entre as espécies pró-oxidantes e antioxidantes é essencial para a condição fisiológica da célula. Desta forma, se este equilíbrio se encontrar deslocado a favor das espécies pró-oxidantes, quer pelo aumento da sua produção quer pela diminuição dos mecanismos de defesa antioxidantes, poderão ocorrer danos estruturais nas biomoléculas, concretamente, nas proteínas, nos lípidos e nos ácidos nucleicos (Liebler e Reed, 1997; Sies, 1993). O stresse oxidativo está, desta forma, envolvido nos processos de mutagénese, carcinogénese, processos inflamatórios, envelhecimento precoce, aterosclerose, entre outros (Giasson *et al.*, 2002; Halliwell e Gutteridge, 2007; Loo, 2003).

4.1.2 Peroxidação lipídica

A peroxidação lipídica é considerada o principal mecanismo molecular envolvido nos danos oxidativos das estruturas celulares e no processo de toxicidade que promove a morte celular. O processo de peroxidação lipídica pode ser descrito como uma reação em cadeia iniciada pela perda de um hidrogénio ou pela adição de um

radical de oxigénio, resultando no dano oxidativo de um ácido gordo polinsaturado. Estes ácidos gordos são mais sensíveis que os ácidos gordos saturados, uma vez que a ponte metileno ativada será um local alvo por excelência, devido a presença de uma dupla ligação adjacente a este grupo tornando a ligação C-H mais frágil e por conseguinte o hidrogénio é mais facilmente abstraído. Isto resultará num eletrão desemparelhado, formando um radical centrado no carbono que será estabilizado por um rearranjo molecular da dupla ligação que formará um dieno conjugado. Posteriormente o dieno reagirá com o oxigénio molecular resultando num radical peroxilo ($LOO^{\bullet}$) que será capaz de abstrair um átomo de hidrogénio de outro ácido gordo polinsaturado dando origem a um hidroperóxido lipídico (LOOH) e a um novo radical lipídico, iniciando assim uma reação em cadeia (Barrera, 2012; Repetto *et al.*, 2012).

O hidroperóxido lipídico (LOOH) será, comparativamente, o primeiro produto estável originário da peroxidação lipídica, apesar de ser capaz de abstrair um hidrogénio de outro ácido gordo polinsaturado e perpetuar o ciclo. Estes hidroperóxidos lipídicos reagem com complexos de ferro reduzido (Fe^{2+}) originando radicais alcoxilo ($LO^{\bullet}$), mas podem, também, reagir de forma mais lenta com o complexo de ferro oxidado (Fe^{3+}), produzindo radicais peroxilo ($LOO^{\bullet}$). Ambos os radicais podem tomar parte na propagação da reação em cadeia da peroxidação lipídica. Os produtos finais da fragmentação dos hidroperóxidos é catalisada por complexos de iões metálicos e resultam em aldeídos citotóxicos e hidrocarbonetos gasosos, como é o caso do etano (Repetto *et al.*, 2012).

A reação propaga-se até que se conjuguem dois radicais livres com consequente terminação da cadeia, facto dependente da elevada concentração de radicais, ou pela intervenção de defesas antioxidantes (Repetto *et al.*, 2012).

A nível da promoção da saúde, a peroxidação lipídica causa um decréscimo da fluidez das membranas celulares bem como alterações na permeabilidade e integridade membranar, potenciando uma diminuição das funções protetora e de barreira das células (Barrera, 2012; Repetto *et al.*, 2012). Os diversos produtos resultantes da peroxidação lipídica (hidroperóxidos e seus derivados aldeídos) inibem a síntese proteica, as ações

dos macrófagos sanguíneos e alteram os sinais dos mediadores químicos e atividade enzimática (Repetto *et al.*, 2012).

4.1.3 Danificação do ADN

O ADN celular está sujeito a uma grande variedade de modificações induzidas por espécies oxidantes. Cerca de 100 diferentes formas de modificações do ADN por espécies reativas foram já identificadas, classificadas essencialmente em lesões da base ou desoxirribose, fragmentação e cross-links na cadeia de ADN (Poulsen, 2005). A lesão mais estudada é a formação da 8-hidroxiguanina (8-OHG), que funciona como um biomarcador da carcinogénese (Valko *et al.*, 2007).

O dano do ADN é considerado um dos mais graves, uma vez que as modificações celulares que as espécies reativas podem produzir, podem originar mutações e instabilidade genética, estando por isso implicada em processos de mutagénese, carcinogénese e no envelhecimento precoce (Dizdaroglu *et al.*, 2002; Poulsen, 2005). Em contrapartida, o organismo possui sistemas de reparação que permitem identificar o ADN danificado e proceder à sua reparação, essencialmente através de mecanismos de excisão da base (Poulsen, 2005).

4.1.4 Oxidação de proteínas

Como resultado da exposição aos radicais livres, muitas modificações podem ocorrer nas proteínas, incluindo a modificação e a fragmentação de aminoácidos, na formação de ligações cruzadas proteína-proteína e na alteração das suas estruturas terciárias, promovendo a diminuição ou perda de função biológica, ou aumento na suscetibilidade proteolítica (Junior *et al.*, 2005; Kunwar e Priyadarsini, 2011; Salvi *et al.*, 2001).

O dano oxidativo nas proteínas *in vivo* pode ser de particular importância, uma vez que a perda da função da proteína pode afetar a atividade das enzimas, recetores e transportadores da membrana celular, entre outras. Para além disso, as proteínas oxidadas podem conter grupos químicos extremamente reativos que poderão contribuir

para o desencadeamento de danos secundários de outras biomoléculas (Salvi *et al.*, 2001).

O ataque das espécies reativas nos aminoácidos ocorre geralmente por adição do radical ou por abstração de hidrogénio que origina a hidroxilação dos grupos aromáticos e das cadeias laterais alifáticas dos aminoácidos, nitrificação de resíduos aromáticos dos aminoácidos, nitrosilação dos grupos sulfidrilo, sulfoxidação dos resíduos de metionina, cloração dos grupos aromáticos e grupos amino primários, e a conversão de alguns resíduos de aminoácidos em derivados carbonilo. A oxidação pode, também, originar a clivagem da cadeia polipeptídica e a formação de ligações cruzadas, formando-se agregados proteicos (Kunwar e Priyadarsini, 2011; Stadtman e Levine, 2003).

Ainda, em menor escala, os hidratos de carbono podem ser atacados pelos radicais livres. Esse ataque promove a oxidação da glicose e de outros monossacarídeos, os quais formam mais radicais. A glicose oxidada pode ainda reagir com proteínas, através da glicosilação (Junior *et al.*, 2005).

4.1.5 Defesas antioxidantes

O termo antioxidante pode ser definido como qualquer substância que presente em menores quantidades que o substrato oxidável retarda significativamente ou previne a oxidação do mesmo (Sies e Stahl, 1995). Estes podem ser classificados como agentes enzimáticos ou agentes não enzimáticos (Tabela 8).

Tabela 8- Principais agentes de defesa antioxidante de natureza endógena e exógena (adaptado de Magalhães, 2009).

Agentes não enzimáticos	Agentes enzimáticos
Vitamina E	Superóxido dismutase
Vitamina C	Catalase
Glutationa	Glutationa peroxidase
β-caroteno	Glutationa redutase
Ácido úrico	Glutationa-S-transferase
Composto fenólicos	Tiorredoxina

Os mecanismos de defesa contra o stresse oxidativo induzido pelas espécies pró-oxidantes envolvem mecanismos preventivos, mecanismos de reparação e defesas antioxidantes. No entanto, a formação e consequente acumulação de radicais livres podem provir do organismo por fontes endógenas e exógenas (Valko *et al.*, 2007), o que justifica a facilidade de desencadeamento do stresse oxidativo.

4.2 Atividade antioxidante dos polifenóis

O estudo da atuação dos antioxidantes foi primeiramente associado à prevenção da oxidação de gorduras insaturadas, causa do aparecimento do ranço. Em contrapartida, o auge na investigação dos antioxidantes ficou marcado pela descoberta das vitaminas C e E, as quais demonstraram elevada atividade antioxidante nos processos bioquímicos dos seres vivos (Lobo *et al.*, 2010). Segundo Lobo *et al*. (2010) a descoberta da vitamina E permitiu reconhecer os antioxidantes como agentes redutores, com capacidade de eliminarem os radicais livres e evitarem os danos celulares. Assim, e a partir dos frutos e vegetais, foram descobertos os compostos fenólicos e, consequentemente, os seus potenciais como agentes antioxidantes.

Os compostos fenólicos atuam de numerosas formas. Os seus grupos hidroxilo são bons dadores de hidrogénio, reagindo com as espécies reativas de oxigénio e de

azoto em reações de terminação, as quais quebram o ciclo de formação de novos radicais livres (Figura 8) (Heim *et al.*, 2002; Valentão *et al.*, 2003)

$$R^{\bullet} + AH \rightarrow RH + A^{\bullet}$$

Figura 8: Reação química demonstrativa do sequestro do radical livre por um agente antioxidante.

Estas reações são de natureza exotérmica o que promove o aumento da energia de ativação e o da energia de dissociação da ligação AH e RH. Portanto, a eficiência dos antioxidantes aumenta com a diminuição da força da ligação AH (Shahidi e Naczk, 2006).

A interação entre as espécies reativas iniciais e o antioxidante originam a formação de um radical fenoxilo, o qual é estabilizado pela deslocalização dos eletrões desemparelhados em torno do anel aromático, possuindo uma maior estabilidade química que os próprios radicais iniciais. O radical resultante não deve iniciar uma nova reação de radicais livres ou ser sujeito a uma rápida oxidação por uma reação em cadeia (Shahidi e Naczk, 2006).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos é também atribuída à sua aptidão em ligarem-se a iões de metais pesados envolvidos na produção de radicais livres (Yang *et al.*, 2001). Adicionalmente, o efeito sinérgico dos compostos fenólicos com outros antioxidantes, principalmente o ácido ascórbico, o β-caroteno e o α-tocoferol assim como a regulação dos níveis de glutationa intracelular, contribui para um aumento do seu potencial antioxidante (Liao e Yin, 2000; Myhrstad *et al.*, 2002). De facto, Halliwell e Gutteridge (2007) definiram sinergismo antioxidante ao efeito da interação entre diferentes compostos bioativos e/ou compostos bioativos e macronutrientes, os quais proporcionam um efeito antioxidante superior a soma dos efeitos antioxidantes esperado para as espécies individuais.

As estruturas fenólicas podem também possuir capacidade de inibição de algumas enzimas envolvidas na formação de radicais livres, caso da lipoxigenase, da cicloxigenase, da xantina oxidase e de várias isoformas do citocromo P450, facto que

lhes confere ação antioxidante. Esta capacidade é devida à sua capacidade em interagir com as proteínas, devido aos seus anéis benzénicos hidrofóbicos e formação de pontes de hidrogénio dos grupos hidroxilo fenólicos (Cos *et al.*, 1998; Parr e Bolwell, 2000).

A capacidade antioxidante de um polifenol também é dependente da sua habilidade de partição entre os meios aquosos e lipídicos. A interação de um agente com as biomembranas, ou a sua captação pelas mesmas, está fortemente relacionado com a sua lipofília, a qual é expressa como o coeficiente de partição. Coeficientes de partição mais elevados possibilitam uma interação mais profunda mas podem também levar a um efeito antioxidante menor na presença de oxidantes solúveis em água, tal como os metais de transição, ou quando os radicais livres estão presente em meio aquoso (Brown, 1998; Liao e Yin, 2000).

4.2.1 Ácidos fenólicos

A atividade antioxidante dos ácidos fenólicos e dos seus derivados varia com o número e posição de grupos hidroxilo ligados ao anel aromático, com o local de ligação e posição relativa dos grupos hidroxilo no anel aromático, bem como a natureza dos substituintes (Andjelkovic *et al.*, 2006). A eficácia antioxidante de um monofenol hidroxibenzóico é superior quando o grupo hidroxilo ocupa a posição *meta* comparativamente aos que este se encontra na posição *orto* ou *para* devido a influência negativa que o potencial de retirada de eletrões do grupo único funcional carboxilo exerce sobre estas posições (Andjelkovic *et al.*, 2006; Seabra *et al.*, 2006). A adição de um segundo grupo hidroxilo ou de um grupo metoxilo aumenta o poder antioxidante, sendo que a substituição na posição *meta* e o aumento de grupos hidroxilo contribuem para o aumento da capacidade antioxidante (Foti *et al.*, 1996; Rice-Evans *et al.*, 1995).

Por outro lado o estudo do potencial antioxidante dos ácidos fenólicos em sistemas lipofílicos demonstrou que todos os monofenóis são menos efetivos que os polifenóis ou seja, a introdução de um segundo grupo na posição *meta*, caso dos ácidos caféico e ácido protocatéquico, resulta num aumento do potencial antioxidante comparativamente com os monofenóis respetivos, o ácido *p*-cumárico e o ácido *p*-hidroxibenzóico. O potencial antioxidante de um monofenol é também aumentado pela

introdução de um ou dois grupos metoxilo na posição *meta*, sendo os compostos duplamente substituídos mais ativos que os que possuem só um grupo metoxilo que por sua vez são mais ativos que os monofenóis que lhe dão origem (Rice-Evans *et al.*, 1995).

Os ácidos hidroxicinâmicos apresentam uma capacidade antioxidante superior à dos ácidos hidroxibenzóicos correspondentes. A dupla ligação presente na cadeia lateral dos ácidos hidroxicinâmicos parece contribuir com uma ação de estabilização do radical por ressonância de deslocamento do eletrão desemparelhado (Balasundram *et al.*, 2006, Rice-Evans *et al.*, 1996).

4.2.2 Cumarinas

As cumarinas têm a capacidade de atuar como antioxidantes através da inibição da peroxidação lipídica e do sequestro de radicais hidroxilo e superóxido, do ácido hipocloroso e do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazila ($DPPH^{\bullet}$). Esta ação antioxidante está, também, associada à sua capacidade em inibir a 5-lipoxigenase e a cicloxigenase, referidas anteriormente (Foti *et al.*, 1996; Kaneko *et al.* 2003).

A atividade antioxidante das cumarinas está essencialmente associada a presença de grupos hidroxilo, uma vez que estes são potentes doadores de eletrões ($H^{\bullet}$) aos radicais pela deslocalização eletrónica através da molécula. Desta forma cumarinas sem a presença de um grupo hidroxilo não apresentam atividade antioxidante significativa, aumentando com a introdução de um grupo hidroxilo e sendo máxima na presença de um grupo orto dihidroxilo. Assim cumarinas como a esculetina ou a 4-metil-esculetina são os compostos que possuem a maior eficácia antioxidante devido a capacidade da porção catecol em doar eletrões, através da formação de uma *orto*-quinona estável por ressonância. De salientar ainda a aparente importância do grupo catecol em C6-C7 na potência antioxidante uma vez que a fraxetina (7,8-dihidroxi-6-metoxicumarina) apresente uma menor capacidade antioxidante quando comparada com a esculetina (Kaneko *et al.* 2003, Peng *et al*., 2013).

Por outro lado, o bloqueio ou perda da função dihidroxilo por um grupo metoxilo ou uma fração glicosil, resulta na redução do potencial antioxidante, uma vez que as cumarinas possuem poucos fatores estruturais benéficos na doação de eletrões, sendo por isso essencial a presença do grupo catecol livre para potenciar a sua ação antioxidante. Desta forma é de particular interesse visto que o anel 1,2-pirona das cumarinas possui uma menor capacidade de retirada de eletrões do que o anel 1,4-pirona dos flavonóides (Kaneko *et al.* 2003; Lin *et al*., 2008; Zhang e Wang, 2004).

Por último é importante ainda salientar a capacidade das cumarinas em inibir a xantina oxidase, enzima envolvida na produção de espécies reativas de oxigénio (ROS) como o peróxido de hidrogénio e o radical superóxido, e desta forma contribuir para a ação antioxidante destes compostos. De forma similar ao sequestro de radicais livres, a presença do grupo catecol é o responsável pela maior capacidade de inibição da xantina oxidase e desta forma, ao aumento do poder antioxidante (Kaneko *et al.* 2003; Lin *et al*., 2008; Zhang e Wang, 2004).

4.2.3 Flavonóides

A atividade antioxidante dos flavonóides depende da organização dos grupos funcionais em volta da estrutura nuclear, sendo que a organização espacial dos substituintes tem uma maior importância na atividade antioxidante que o núcleo flavílio isolado (Seabra *et al.*, 2006).

A configuração dos grupos hidroxilos do anel B é o fator mais significativo para o sequestro das espécies reativas e consequente o aumento da atividade antioxidante. Desta forma o grau de hidroxilação e a posição dos grupos hidroxilo no anel B em particular uma estrutura 3',4'-catecol promove uma maior ação antioxidante uma vez que possui uma melhor capacidade de doação de eletrões através de uma deslocalização eletrónica facilitada (Figura 9) e atua como local predileto para a ligação dos metais de transição (Balasundram *et al.*, 2006; Pietta, 2000; Rice-Evans *et al.*, 1996).

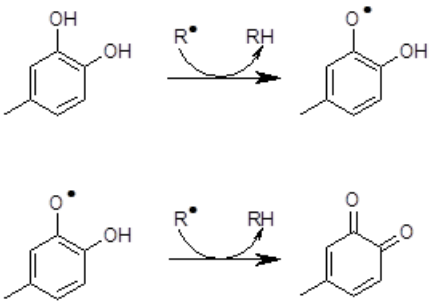


Figura 9: Mecanismo dos flavonóides na remoção de radicais (adaptado de Seabra *et al*., 2006).

O poder dos flavonóides na remoção de radicais livres depende da presença de um grupo 3-hidroxilo livre (Figura 10), o qual crê-se ser responsável pelo aumento da estabilidade do radical flavonóide. Desta forma, de entre os diferentes grupos dos flavonóides, os flavonóis apresentam maior capacidade antioxidante que as flavonas correspondentes devido a presença do grupo 3-hidroxilo (Cao *et al.*, 1997; Cook *et al.*, 1996; Moderno *et al.*, 2009).

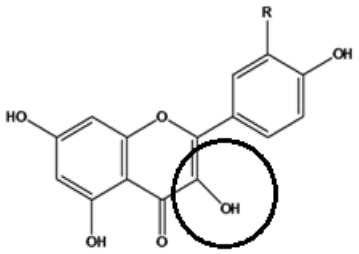


Figura 10: Estrutura de um flavonol com o grupo 3-hidroxilo livre (adaptado de Moderno *et al.*, 2009).

Por outro lado, a presença do grupo 3-hidroxilo influencia o ângulo de torção da molécula. Os flavonóis e as catequinas como apresentam um grupo 3-hidroxilo são considerados moléculas planas, enquanto as flavonas e flavanonas, desprovidas deste grupo são moléculas ligeiramente distorcidas.

No caso do anel C, a existência da ligação dupla entre o carbono 2 e 3 conjugada com o grupo 4-carbonilo é responsável pela deslocalização eletrónica do anel B

resultando num aumento da atividade antioxidante (Balasundram *et al.*, 2006; Heim *et al.*, 2002; Rice-Evans *et al.*, 1996).

Por outro lado no anel A os substituintes apresentam pouca expressão quando comparados com os substituintes do anel B. Contudo, a presença de um grupo 5-hidroxilo poderá contribuir para o aumento da capacidade antiradicalar, através do aumento da ressonância na presença de uma dupla ligação entre o carbono 2 e 3 e dos grupos 3-hidroxilo e carbonilo (Figura 11) (Cook *et al.*, 1996; Moderno *et al.*, 2009).

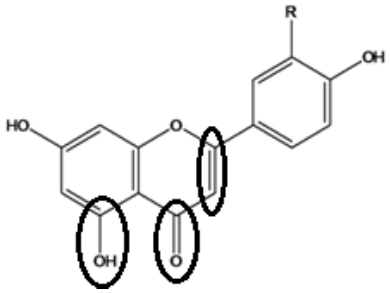


Figura 11: Estrutura de uma flavona com o grupo 5-hidroxilo, o grupo 4-carbonilo e dupla ligação entre C_2 e C_3 em destaque (adaptado de Moderno *et al.*, 2009).

No caso particular das isoflavonas, a capacidade anti-radicalar é menor uma vez que o anel B encontra-se ligado ao carbono da posição 3 do anel heterocíclico. Por outro lado, a presença de um grupo 4'-hidroxilo é necessária para que as isoflavonas apresentem ação antioxidante, no entanto, a sua metoxilação diminui a mesma (Figura 12) (Moderno *et al.*, 2009; Pietta, 2000).

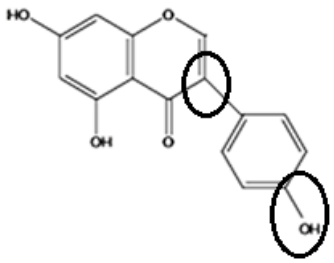


Figura 12: Estrutura de uma isoflavona com a ligação do anel B ao C_3 do anel C e o grupo 4'-hidroxilo em destaque (adaptado de Moderno *et al.*, 2009).

Convém realçar que a introdução de substituintes metoxilo nas estruturas químicas dos flavonóides não implica, de forma significativa, a diminuição da atividade anti-radicalar, sendo que a diferença entre flavonóides polihidroxilados e polimetilados deve-se essencialmente às diferenças de hidrofobia e coplanaridade da molécula. Apesar deste facto, o anel B é particularmente sensível a introdução de um grupo metoxilo, essencialmente quando ocorre obstrução estérica da estrutura 3',4'-catecol pela introdução de um grupo 4'-O-metoxilo, comprometendo significativamente a capacidade antioxidante. Por outro lado a presença de múltiplos grupos metoxilo no anel A também contribui para a diminuição do efeito positivo do catecol do anel B (Balasundram *et al.*, 2006; Hein *et al.*, 2002).

Por último, também se sabe que a glicosilação dos flavonóides promove a uma diminuição da atividade antioxidante, devido essencialmente à ocupação dos grupos hidroxilos livres do anel B em relação à restante estrutura do flavonóide e, por conseguinte, a capacidade para deslocalizar os eletrões torna-se menor (Fukumoto e Mazza, 2000; Hein *et al.*, 2002; Rice-Evans *et al.*, 1996).

Na verdade, de todos os compostos bioativos, os flavonóides são os que merecem maior destaque, pois a complexidade da sua estrutura química potencia a atividade antioxidante deste grupo de compostos. Segundo Rice-Evans et al. (1996) e Pietta (2000), a atividade antioxidante dos flavonóides pode ainda ser superior devido às suas capacidades de quelatar iões de metais pesados, preferencialmente no grupo catecol do anel B, estruturas cetol como 4-oxo-3-hidroxi no anel heterocíclico e 4-oxo-5-hidroxi no anel C (Figura 13).

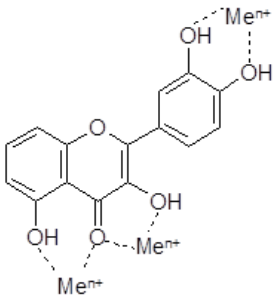


Figura 13: Representação dos locais de ligação dos flavonóides a iões de transição (adaptado de Seabra *et al*., 2006).

4.2.4 Taninos

Os taninos dada a sua relação com os ácidos fenólicos e os flavonóides apresentam propriedades antioxidantes, quer pela remoção de radicais livres, quer pela capacidade de quelatar iões de metais pesados bem como pela ligação e inativação de proteínas (Hässig *et al*., 1999, Schofiel *et al*., 2001; Yokozawa *et al*., 1998).

Os taninos são divididos essencialmente em duas classes os taninos hidrolisados e os taninos condensados. A distinção estrutural entre estas duas classes prende-se em duas características principais, a presença de ácido gálhico (galhotaninos) ou ácido elágico (elagitaninos) esterificado em moléculas de monossacarídeos e oligómeros e polímeros de 3-flavanóis polihidroxilados ligados através de ligações carbono-carbono. Sendo no entanto conhecido taninos condensados que contêm ácido gálhico esterificado ao grupo hidroxilo do carbono 3 no anel C (Schofiel *et al*., 2001; Yokozawa *et al*., 1998).

A presença de uma concentração invulgarmente elevada local de grupos hidroxilo *orto*-fenólicos constitui a característica chave dos taninos para a atividade antioxidante. No caso dos taninos hidrolisados esta encontra-se associada principalmente com os resíduos do ácido gálhico e do ácido elágico, enquanto nos taninos condensados encontra-se associado aos grupos hidroxilo do anel B, podendo no entanto haver também contribuição por parte de galhato esterificado. Assim a atividade antioxidante aumenta com o aumento do número dos grupos galhoil, com o aumento do

peso molecular e da concentração espacial destes grupos *orto*-fenólicos, sendo reconhecido que os taninos hidrolisados são geralmente agentes antioxidantes por unidade mais potentes que os taninos condensados (Schofiel *et al*., 2001; Yokozawa *et al*., 1998).

Adicionalmente os taninos condensados possuem diferentes substituintes nos monómeros 3-flavanóis que os constituem. Desta forma o aumento na proporção prodelfinidina/ procianidina, monómeros que se distinguem pela presença de um grupo hidroxilo no carbono 5 do anel B no caso das prodelfinidinas e que se encontra ausente nas procianidinas, num tanino condensado traduz-se num aumento da capacidade antioxidante (Schofiel *et al*., 2001; Yokozawa *et al*., 1998).

Por último é ainda importante salientar a capacidade que os taninos possuem em ligarem-se às proteínas, precipitando-as, causando a adstringência característica de alguns frutos e seus derivados ricos em taninos pela precipitação das proteínas salivares. Esta ocorre essencialmente através de ligações tipo pontes de hidrogénio entre os taninos e as proteínas, sendo por isso maior a ação de complexação com o aumento do peso molecular e consequentemente de grupos hidroxilo disponíveis (Barbehenn e Constabel, 2011).

4.3 Outras atividades biológicas

4.3.1 Atividade anticancerígena

O cancro é uma doença heterogénea multifatorial, causado por aquisição sequencial de mutações em genes, envolvidos na proliferação e morte celular, ou seja, em genes supressores de tumores e proto-oncogenes. Na origem deste processo ocorre um dano no ADN celular causado por fatores endógenos, como erros na replicação do ADN, instabilidade química intrínseca de algumas bases e o ataque de radicais livres. Quanto aos fatores exógenos, podem-se incluir as radiações UV, carcinogénicos químicos, vírus e bactérias. No entanto, uma dieta alimentar pouco saudável, com escassez de ingestão de frutas e vegetais, também pode ser um fator exógeno de elevada relevância (Cabrera e Mach, 2012; Link *et al.*, 2010).

Os principais produtos do dano oxidativo do ADN causado pelos radicais livres são quebras de cadeia, bases modificadas, açúcar danificado e a formação de ligações cruzadas entre proteínas e ADN, que poderão originar uma sobre-expressão de oncogenes capazes de codificarem as proteínas envolvidas no processo de regulação do crescimento e diferenciação celular, bem como na inativação ou redução da atividade de genes supressores de tumores exercendo um efeito repressivo na regulação do ciclo celular e promoverem a apoptose. Estes fatores, em conjunto com falhas no funcionamento nas capacidades defensivas antioxidantes da célula bem como os sistemas de reparação, promovem uma divisão e um crescimento incontrolado da célula (Cabrera e Mach, 2012; Chahar *et al.*, 2011).

O efeito anticancerígeno dos compostos fenólicos está relacionado com as propriedades que estes apresentam na capacidade de sequestro de espécies reativas de oxigénio e nitrogénio. Segundo Androutsopoulos et al. (2011), estes compostos podem atuar numa fase de iniciação da carcinogénese, inibindo certas enzimas metabolizadoras da fase I (CYP1A1 e CYP1B1) as quais metabolizam um grande número de pro-carcinogénicos, funcionando como agonistas e/ou antagonistas do recetor aril hidrocarboneto desse conjunto de enzimas (Androutsopoulos *et al.*, 2011; Walle, 2007).

Ao nível da fase de progressão da carcinogénese os compostos fenólicos apresentam a capacidade de bloquear o ciclo celular e interromper a formação do fuso mitótico, através da inibição da topoisomerase e da modulação das quinases proteicas tirosina quinase (PTK), serina/treonina quinase (STK) e as quinases ciclina-dependentes (CDKs) (Sánchez-Tena *et al.*, 2013). Outro estudo recente salienta que os compostos fenólicos atuam nos recetores do fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGFRs) e do fator de crescimento epidérmico (EGFRs) (Ravishankar *et al.*, 2013).

Mediante este mecanismo de ação acima referido, outros autores ainda referem que os compostos fenólicos podem interferir no processo de angiogénese através da regulação dos recetores associados ao fator de crescimento endotelial vascular (VEGFRs), tendo sido demonstrado a sua capacidade em limitar o crescimento e desenvolvimento de tumores sólidos (Berdowska *et al.*, 2013). Outros autores afirmam

que os compostos fenólicos através da inibição das metaloproteínases (MMPs) ajudam no processo da metastização das células tumorais (Walle, 2007; Weng e Yen, 2012).

Os compostos polifenólicos também podem desencadear a apoptose em células tumorais através da modulação de um número de elementos chave nas vias de transdução do sinal celular ligados a apoptose, nomeadamente nas caspases e o gene blc-2 (Link *et al.*, 2010). Segundo Ravishankar et al. (2013) os flavonoides inibem as enzimas xantina oxidase, cicloxigenase e a lipoxigenase, as quais se encontram associadas a patologias inflamatórias e ao cancro.

Por outro lado o acumular de evidências nos últimos anos indicam que a heterogeneidade das células tumorais é, em parte, devido à contribuição significativa de alterações epigenéticas em células cancerosas, consequentemente é agora aparente que a plasticidade epigenética em conjunto com as lesões genéticas impulsiona a progressão do tumor, e que o cancro é a manifestação de ambas as alterações genéticas e epigenéticas. Estas consistem em alterações hereditárias reversíveis na expressão dos genes que ocorre sem alteração na sequência do ADN, destacando-se três mecanismos distintos mas interligados: a metilação do ADN; as modificações das histonas; a regulação génica pós-transcricional por micro-ARN não codificante (Esteller, 2008; Link *et al.*, 2010).

A metilação de ADN caracteriza-se pela introdução de grupos metilo na posição 5’ dos resíduos de citosina nos dinucleotídeos citosina-fosfato-guanina (CpG), com a formação de 5-metilcitosina. Estes dinucleotídeos encontram-se maioritariamente presentes na região dos promotores de genes, estando em mais de 50% dos promotores dos genes humanos, e não uniformemente distribuído por tudo o ADN. Estas regiões designadas de ilhas CpG e ao contrário da maioria dos CpG dinucleotídeos permanecem nas células normais indiferenciadas, em forma não metiladas durante o seu desenvolvimento. A sua hipermetilação poderá resultar no silenciamento de promotores de genes transcricionalmente ativos que se encontram tipicamente hipometilados (Issa e Kantarjian, 2009; Link *et al*., 2010).

O papel do silenciamento de genes pela metilação de ADN em diversas neoplasias humanas é agora bem conhecido, acreditando-se de facto ser um dos mecanismos mais comuns no silenciamento transcricional de genes supressores tumorais. Os compostos fenólicos vão atuar inibindo a ação das enzimas responsáveis pela metilação da citosina, as ADN metiltransferases (DNMTs), revertendo o silenciamento induzido por metilação e restaurando a expressão de vários genes supressores tumorais (Link *et al.*, 2010).

Para além da alteração da expressão génica pela metilação direta de ADN, as modificações nas histonas influenciam a estrutura da cromatina, a qual varia entre altamente comprimida, que será inacessível para transcrição, e pouco comprimida que se encontra disponível para a transcrição ativa através de ligação de fatores de transcrição (Link *et al.*, 2010; Lund e Van, 2004). Estas modificações, ao contrário da metilação de ADN, podem conduzir quer à ativação ou repressão transcricional, dependendo do tipo de resíduos que estão envolvidos e do tipo de modificação do presente (Link *et al.*, 2010). Estas ocorrem essencialmente nas caudas N-terminais das histonas especificamente nos resíduos de lisina, arginina e serina e desregulam processos chaves celulares tais como a transcrição, a replicação e reparação. O tipo de alterações consiste em metilações, acetilações, fosforilações, ribosilações, ubiquitinações e biotinilações (Kouzarides, 2007; Link *et al.*, 2010).

De forma similar à metilação do ADN, as modificações nas histonas são potencialmente reversíveis uma vez que são dinamicamente reguladas por um grupo de enzimas que adicionam ou removem ligações covalentes com as proteínas, destacando-se a histona acetiltransferase (HAT) e a histona metiltransferase (HMT) que adicionam grupos acetil e metil, e a histona deacetilase (HDAC) e histona demetilase (HDM) capazes de removerem grupos metil e acetil, respetivamente (Haberland *et al.*, 2009; Link *et al.*, 2010). A este propósito, são conhecidos vários compostos fenólicos que possuem atividade inibitória nestas enzimas, principalmente a HAT e a HDAC o que se traduz numa capacidade por parte destes compostos em normalizar o seu bom funcionamento (Link *et al.*, 2010).

O micro-ARN consiste em cadeias únicas pequenas de ARN, de 19 a 24 nucleótidos que possuem a capacidade de regular os genes através do silenciamento pós-transcricional dos mesmos. Estes vão emparelhar de forma específica com as bases de regiões de cadeias de ARN mensageiro alvo resultando na degradação ou inibição da sua tradução (He e Hannon, 2004; Link *et al.*, 2010).

Os micro-ARN regulam uma série de processos biológicos, os quais incluem a proliferação e diferenciação celular e a apoptose. Embora estas moléculas sejam importantes para a fisiologia normal da célula, a sua expressão anormal tem sido relacionada com processos de carcinogénese, sendo mesmo utilizados os perfis de micro-ARN na classificação de diferentes cancros (Link *et al.*, 2010; Nicoloso *et al.*, 2009). No entanto, os micro-ARN tanto podem possuir um papel oncogénico, se o ARN mensageiro alvo for um gene supressor tumoral, como também um papel supressor de tumores se a molécula alvo for um oncogene. Segundo Link e colaboradores (2010), os compostos fenólicos podem afetar o nível de expressão do micro-ARN, incluindo a própria regulação por mecanismos epigenéticos como a metilação, com uma regulação positiva sobre os micro-ARN supressores tumorais e/ou regulação negativa sobre os micro-ARN oncogénicos resultando num potencial efeito anticarcinogénico.

4.3.2 Atividade cardioprotetora

As doenças cardiovasculares são uma das principais causas de morte nos países desenvolvidos. Embora alguns dos fatores de risco não sejam controláveis, como a idade, o género e predisposição genética, é bem conhecido o papel da dieta e do estilo de vida no desenvolvimento destas doenças. Atualmente é conhecido o efeito negativo da ingestão excessiva de ácidos gordos saturados e do colesterol no desenvolvimento destas doenças através das alterações nas lipoproteínas-colesterol de baixa densidade (LDL-C) (Leifert e Abeywardena, 2008).

Os compostos fenólicos têm despertado o interesse pela sua capacidade de funcionarem como agentes cardioprotetores, em particular o chamado "paradoxo francês" que se caracteriza numa dieta rica em ácidos gordos saturados e uma menor incidência do que era esperado de acidentes isquémicos cardíacos associados ao

consumo moderado de vinho (Leifert e Abeywardena, 2008; Shen *et al.*, 2006). Os principais mecanismos propostos para a ação cardioprotetora destes compostos são a redução da oxidação das LDL-C, a modulação da cascata inflamatória, a melhoria da função vascular, o efeito protetor em complicações aterotrombóticas como é o caso dos acidentes isquémicos do miocárdio e a inibição da agregação das plaquetas (Figura 14) (Afonso *et al.*, 2013; Biasi *et al.*, 2013; Bradamante *et al.*, 2003; Céspedes *et al.*, 2008; Cook e Samman, 1996; Leifert e Abeywardena, 2008).

O stresse oxidativo e a oxidação das LDL-C são um passo importante no desenvolvimento da aterosclerose. As LDL quando oxidadas estimulam as células endoteliais a produzirem citoquinas e outros fatores que tem uma direta ação quimiotática para a adesão dos monócitos ao endotélio, à ativação dos macrófagos induzindo a acumulação de colesterol e consequentemente à formação de células espumosas, as quais se conjugam e formam camadas de gordura, indicadores primordiais em lesões ateroscleróticas precoces, seguido pelo desenvolvimento de placas fibrosas e ateroma (Hort *et al.*, 2012; Leifert e Abeywardena, 2008). Os compostos fenólicos, devido a sua capacidade antioxidante, ajudam a reduzir o stresse oxidativo e consequentemente a suscetibilidade das LDL à oxidação, diminuindo por isso a formação das células espumosas e o desenvolvimento das lesões ateroscleróticas precoces (Afonso *et al.*, 2013; Céspedes *et al.*, 2008; Leifert e Abeywardena, 2008). Segundo Xu e Si (2012), num estudo realizado em ratos, os autores concluíram que os compostos fenólicos também ajudam na redução da concentração plasmática de triglicerídeos, ácidos gordos livres, triglicerídeos colesterol hepáticos.

Também é reconhecida a atividade vasodilatadora dos compostos fenólicos quer nos vasos de grande condutância (aorta), quer nos vasos de menor resistência (mesentéricos). O principal modo de ação proposto é através da regulação positiva do monóxido de azoto (NO) endotelial e o aumento da disponibilidade de adenosina em condições normóxicas e a direta estimulação dos recetores A_2 nas células do músculo liso vascular (Bradamante *et al.*, 2003; Xu e Si, 2012). Por outro lado a atividade vasodilatadora também está associada à capacidade de certos compostos fenólicos atuarem como inibidores da enzima de conversão da angiotensina, evitando os efeitos

secundários adversos característicos dos fármacos utilizados com esse fim (Afonso *et al.*, 2013).

Os compostos fenólicos são também conhecidos pela diminuição do grau de severidade e da mortalidade em episódios de isquemia/reperfusão do miocárdio, uma vez que a sua ação antioxidante em sequestrar os radicais livres diminui o tamanho da lesão e melhora as funções contráteis após acidente isquémico (Leifert e Abeywardena, 2008). Existem ainda diversos estudos quem apontam uma capacidade de pré-condicionamento isquémico do miocárdio pelos compostos fenólicos através da regulação positiva do NO e da capacidade de inibir a abertura do poro de permeabilidade transitória mitocondrial (mPTP), resultando numa indução dos sistemas de defesa endógenos, os quais possuirão a capacidade de redução do tamanho da lesão do enfarte, diminuindo tanto a necrose como a apoptose e melhorando a recuperação funcional cardíaca (Shen *et al.*, 2006; Xi *et al.*, 2009).

Por fim importa ainda salientar a ação antiagregante plaquetária que os compostos fenólicos possuem, particularmente os flavonoides. Segundo Cook e Samman (1996) esta ação é explicada em parte pela inibição da formação do tromboxano e da função do recetor do tromboxano, bem como a mediação do aumento de AMP cíclico nas plaquetas, quer pela estimulação adenilato ciclase ou a inibição da atividade da fosfodiesterase (PDE). Um outro estudo associa ainda a capacidade de ativar a molécula de adesão plaqueta-célula endotelial (PECAM-1) aos efeitos antiagregantes plaquetários dos polifenóis presentes na uva (Leifert e Abeywardena, 2008).

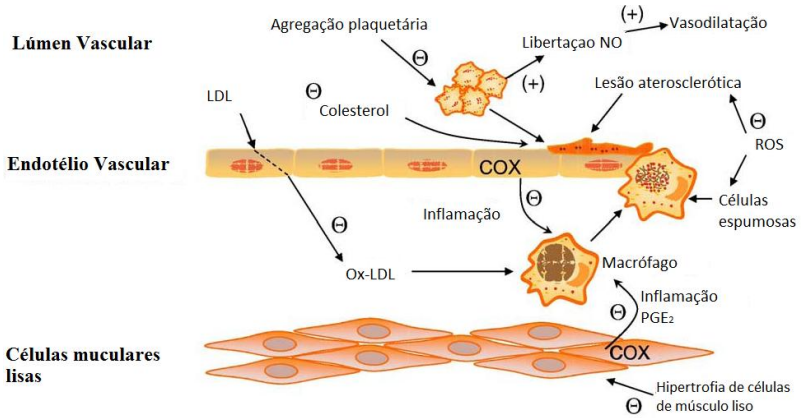


Figura 14: Mecanismo de ação dos compostos fenólicos nos primeiros passos da

aterosclerose. O sinal positivo (+) indica um aumento do efeito enquanto um sinal negativo (-) reflete um efeito inibitório (adaptado de Leifert e Abeywardena, 2008).

4.3.3 Atividade anti-inflamatória

A inflamação é uma resposta não específica dos tecidos dos mamíferos a uma variedade de agentes hostis ao mesmo, sendo a sua regulação crucial para a manutenção do balanço entre um resposta protetora e uma resposta que resulta numa lesão tecidual (Kassim *et al.*, 2010; Veres, 2012). A sua manifestação crónica encontra-se associada a um conjunto de alterações fisiológicas associadas a uma doença, incluindo o cancro, as doenças cardiovasculares, a artrite reumatoide e as doenças neurodegenerativas (Cicerale *et al.*, 2011).

As citoquinas são pequenas proteínas que atuam de forma parácrina, autócrina e endócrina, sendo secretadas por diversas células como resposta a estímulos diferentes, caso do lipopolissacarídeo (LPS), radiação UV, ROS, entre outros. Entre elas destacam-se o interferão-gama (IFN-γ), o fator de necrose tumoral alfa (TNFα), a interleucina 2 (IL-2), IL-3, IL-6, IL-10, IL-12, IL-20, sendo que algumas delas são classificadas como citoquinas pró-inflamatórias, casos do IFN-γ, do TNFα, e da interleucinas 1,2,6 e 12, em contraste as citoquinas como o IL-10 são conhecidas como citoquinas anti-inflamatórias. Assim uma apropriada regulação entre a expressão de citoquinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias por parte das células do sistema imunitário pode evitar doenças imunológicas resultantes da inflamação (Liu e Lin, 2013; Veres, 2012).

Os compostos fenólicos presentes no azeite inibem a produção de citoquinas inflamatórias, nomeadamente a TNFα e a IL-1 (Cicerale *et al.*,2012). Também foi observado em modelos *in vitro* de células inflamadas do epitélio intestinal humano, a inibição das IL1B, IL-6, IL-7, IL-8 e IL-15 pelo galhato de epigalocatequina, resveratrol e crisina (Sergent *et al.*, 2010). Liu e Lin (2013) observaram uma diminuição entre a razão das citoquinas IFN-γ+IL-2+IL-12/IL-10 e TNFα/IL-10 (pró-inflamatório/anti-inflamatório) em células expostas ao lipopolissacarídeo e tratadas com extratos de morango e de amora.

A atividade anti-inflamatória dos compostos fenólicos também foi descrita através da modulação das enzimas interventivas na cascata inflamatória, incidindo-se sobre a ativação de fatores de transcrição, da expressão de moléculas de adesão celular, expressão de genes pró-inflamatórios e sobre o estado redox celular (González-Gallego *et al.*, 2007). De facto, a capacidade de inibição dos compostos fenólicos de enzimas ativadas durante o decurso dos processos inflamatórios (e.g. monóxido de azoto sintetase indutível (iNOS), cicloxigenase (COX)) resulta numa diminuição da biossíntese de NO e das prostaglandinas, em particular da prostaglandina E_2 (González-Gallego *et al.*, 2007; Kazłowska *et al.*, 2010; Surh *et al.*, 2001). É de salientar ainda a co-regulação existente entre a COX-2 e a iNOS, tendo sido demonstrado que o NO e o seu produto com o anião superóxido, o peroxinitrito, exerce um efeito regulatório na síntese de prostaglandinas, através da ativação direta das enzimas COX (Surh *et al.*, 2001) (Figura 15).

Por outro lado os compostos fenólicos possuem a capacidade de inibição da 15-lipoxigenase, enzima responsável pela produção de eicosanóides pró-inflamatórios (Boudjou *et al.*, 2013).

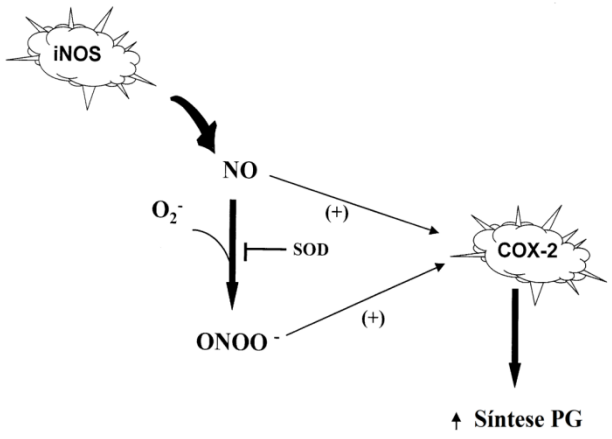


Figura 15: Co-regulação existente entre iNOs e COX-2 (adaptado de Surh *et al.*, 2001).

A modulação da cascata de eventos moleculares que levam a sobrexpressão das enzimas iNOS e COX-2 possui vários passos críticos onde os compostos fenólicos podem atuar (Figura 15). O fator nuclear kappa B (NFκB) é um dos principais fatores de transcrição e cuja modulação desencadeia uma cascata de eventos moleculares,

alguns dos quais poderão funcionar como um dos principais alvos para o tratamento da inflamação, uma vez que a sua ativação converge com as vias de indução da iNOS e COX-2 (González-Gallego *et al.*, 2007; Kazłowska *et al.*, 2010; Nahar *et al.*, 2014).

O NFκB aparece na forma latente no citoplasma de células não estimuladas, formando um complexo com os seus inibidores, os IkappaBs (IκBα e IκBβ). A sua ativação é regulada pelas quinases IκBα e IκBβ que fosforilam e degradam as proteínas IκBs, promovendo à migração da NFκB para o núcleo, o qual estimula a expressão dos genes alvo, como os genes que codificam as enzimas iNOS e COX-2, a proteína C reativa (CRP), citoquinas e moléculas de adesão celular (Figura 16) (González-Gallego *et al.*, 2007; Kazłowska *et al.*, 2010; Surh *et al.*, 2001).

Os compostos fenólicos irão sub-regular as citoquinas, entre elas a IL-6 e TNFα, bem como sequestrar os radicais livres o que se traduzirá numa diminuição do estímulo inflamatório celular necessário para a ativação do NFκB (Figura 16). Por outro lado alguns flavonóides, casos da quercetina e canferol, possuem ainda a capacidade de diminuição da degradação das IkappaBs através da regulação das quinases IκB (Cicerale *et al.*, 2012; González-Gallego *et al.*, 2007; Kassim *et al.*, 2010).

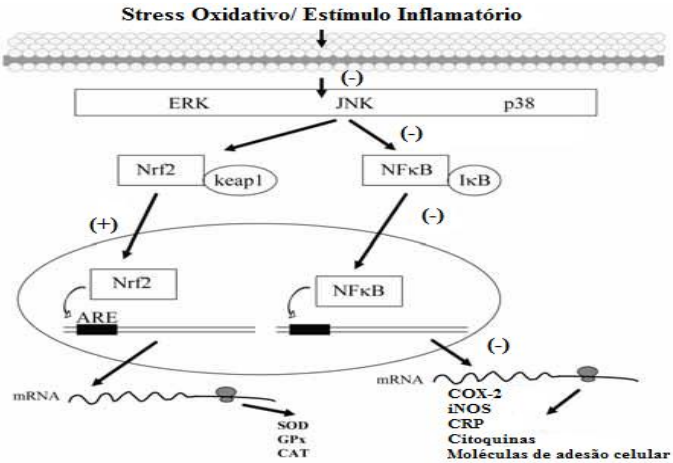


Figura 16: Modelo esquemático de alguns efeitos anti-inflamatórios exercidos pelos compostos fenólicos (adaptado de González-Gallego *et al.*, 2007).

Segundo González-Gallego et al. (2007), um dos passos de maior relevância para a indução transcripcional das moléculas de adesão celular, é a ativação do NFκB. Os mesmos autores referem a capacidade inibitória dos compostos fenólicos no processo de ativação do NFκB e, consequentemente, das moléculas de adesão celular, como a ICAM-1.

Por último um mecanismo adicional que contribui para a atividade anti-inflamatória por parte dos compostos fenólicos, é a sua capacidade de regulação do estado redox celular, quer pela ação antioxidante ao captar os radicais livres, reduzindo desta forma o sinal indutivo na produção de citoquinas e fatores transcripcionais (NFκB), quer pela indução na produção das enzimas que fazem parte da defesa antioxidante endógena (superóxido dismutase, catalase e glutationa peroxidase), via ativação do fator nuclear derivado de (eritroide 2) fator relacionado 2 (Nrf2) (González-Gallego *et al.*, 2007).

4.3.4 Atividade antienvelhecimento

O envelhecimento precoce está associado a um aumento da incidência de várias doenças degenerativas, incluindo as doenças cardiovasculares, a diabetes tipo 2, o cancro e o Alzheimer (Pallàs *et al.*, 2010).

O mecanismo do processo de envelhecimento é complexo e, de uma maneira geral, está associado a diversas causas, nomeadamente o stresse oxidativo, alterações da regulação genética, a perda dos telómeros e da redução da autofagia. Todas estas causas são alterações fisiológicas relacionadas com a idade. No entanto, o desenvolvimento precoce do processo de envelhecimento também parece estar intimamente relacionado com a agregação incorreta das proteínas, possíveis alterações mitocondriais, alterações da membrana celular, processos inflamatórios, apoptose e modificações epigenéticas (Bacalini *et al.*, 2014; Pallàs *et al.*, 2010; Si e Liu, 2014).

Os efeitos benéficos da restrição calórica para o organismo incluem o bloqueio dos fatores da inflamação, a diminuição da glicemia e do metabolismo das gorduras e dos hidratos de carbono, a inibição do desenvolvimento tumoral, a melhoria do

glicocálix endotelial (rede glicoproteica que protege as artérias e ajuda a controlar a sua resposta a fatores ambientais) e do sistema cardiovascular, da qualidade da pele e desempenho cerebral e o aumento de energia e bem-estar. A restrição calórica é um dos poucos mecanismos conhecidos capaz de prolongar a vida a uma ampla variedade de espécies, desde leveduras até aos mamíferos (Lastra e Villegas, 2005).

A maioria dos portugueses ingere diariamente uma quantidade de alimentos maior do que a que seria desejável, tendo em conta as necessidades físicas do organismo. Comer mais do que o necessário inunda o organismo de triglicerídeos, de glicose, de homocisteína e de mediadores pró-inflamatórios, resultando no envelhecimento precoce e acelerado. O corte deve incidir nos hidratos de carbono de médio ou elevado índice glicémico (pão, batata, açúcar, mel e frutos tropicais, entre outros), para a ingestão de 1000 calorias diárias. Assim, a ingestão de frutas e de legumes, com elevados teores de compostos fenólicos, tais como metformina, resveratrol e quercetina demonstraram serem capazes de prolongar a longevidade, ativando a enzima sirtuína 1 (SIRT 1), que ativa os genes da longevidade (Pallàs *et al.*, 2010; Si e Liu, 2014).

Os autores McCay e colaboradores (1935) publicaram pela primeira vez o efeito da restrição calórica em ratos. O estudo observou que, quando a restrição calórica era executada após a puberdade, os ratos apresentavam vida prolongada e atenuação das severidades de doenças crónicas. Também Weindruch et al. (1982) mostrou que a redução calórica de 30 a 60% em ratos adolescentes (6 meses) causou um aumento proporcional de 30% a 60% na expectativa de vida máxima. Muito outros estudos relacionados foram realizados por outros autores e os mesmos contestaram que a restrição calórica aumenta a longevidade impedindo ou retardando a ocorrência das doenças crónicas como: arteriosclerose, cardiomiopatia, diabetes, doenças autoimunes, cancro, Alzheimer e Parkinson (Guo *et al.*, 2002; Jolly *et al.*, 2001; Maswood *et al.*, 2004; Patel *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2007)

Assim, uma dieta alimentar rica em frutas e vegetais além de promover uma maior ingestão de compostos fenólicos é considerada de baixo teor calórico. Por outro lado, a mimetização por parte dos compostos fenólicos confere-lhes ainda a capacidade

de regulação de muitas moléculas que estão envolvidas na promoção da função mitocondrial e da homeostasia energética. Desta forma tão simples, a ingestão destes compostos bioativos promovem a saúde e ajudam a aumentar a longevidade (Pallàs *et al.*, 2010; Si e Liu, 2014).

Adicionalmente sabe-se que a avaliação real do efeito da restrição calórica na longevidade é complexa e torna-se necessário caracterizar e identificar os novos marcadores do envelhecimento que estejam relacionados com a adaptação do sistema neuroendócrino, prevenção da inflamação e proteção contra os prejuízos do stresse oxidativo, que em conjunto contribuem na avaliação do estudo da morbidade e da mortalidade na população em geral (Fontana, 2009). Por outro lado, os efeitos benéficos observados nos estudos previamente publicados e realizados em humanos estão relacionados com os hábitos alimentares da população. O resveratrol (principal polifenol encontrado nas sementes, na pele das uvas e no vinho tinto) ativa a enzima sirtuína 1 a qual promove o aumento da cinase ativada por AMP (AMPK) que, por sua vez, está associada à longevidade e retardamento do declínio funcional associado ao envelhecimento (Pallàs *et al.*, 2010; Si e Liu, 2014).

4.3.5 Atividade antimicrobiana

O aumento da resistência do metabolismo humano aos agentes antimicrobianos tornou-se um dos grandes problemas emergentes e, actualmente, tem sido um assunto prioritário para os investigadores e médicos de todo o mundo, sendo necessário um investimento substancial na pesquisa de novos agentes anti-infeciosos de forma a tentar evitar o que se poderá tornar uma crise de saúde pública. O tratamento de vírus, bactérias, fungos e protozoários com os fármacos existentes é cada vez mais difícil, uma vez que se verifica um aumento no número de casos em que o agente infecioso possui pelo menos resistência a um dos agentes antimicrobianas. Por outro lado, com o aumento na dificuldade da descoberta de novos compostos antimicrobianos e o aumento das resistências às drogas existentes bem como com o aproximar do fim de linha de um dos meios mais eficazes para o prolongamento da vida útil destes compostos, que consiste nas modificações estruturais das drogas já conhecidas, origina a que os

compostos fenólicos surjam como possíveis alternativas, uma vez que lhe têm sido atribuídas propriedades antimicrobianas (Alves *et al*., 2013; Cushnie e Lamb, 2005).

Apesar da conhecida atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos, alguns estudos apresentam resultados contraditórios, uma vez que algumas vezes a mesma molécula demonstra capacidades de inibição contrárias ao mesmo microrganismo. Não obstante, tais discrepâncias podem ser, no entanto, atribuídas à utilização de diferentes tipos de metodologias usadas para a avaliação da concentração mínima inibitória (técnica da diluição em agar, o ensaio de difusão em disco de papel, etc.), bem como diferenças dentro do mesmo método, como a utilização de diferentes tamanhos de inóculo, diferentes tipos e volumes de caldo e/ou ágar, diferentes tamanhos nos poços ou dos discos de papel, diferentes períodos de incubação, a utilização de diferentes estirpes do mesmo microrganismos e por isso com diferentes perfis de resistência aos antimicrobianos, a utilização de diferentes solventes na dissolução dos compostos fenólicos, entre outros (Bashir *et al*., 1994; Basile *et al*., 2000; Cushnie e Lamb,2005).

Muitos autores descreveram os ácidos 2,4-dihidroxibenzoico, protocatéquico, vanílico e *p*-cumárico como compostos com atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Pasteurella multocida* e *Neisseria gonorrhoeae*, havendo também uma ação inibitório sobre as últimas duas bactérias por parte do ácido gálhico, do ácido ferúlico e da quercetina (Alves *et al*., 2013). Outros autores demostraram ainda atividade antimicrobiana contra bactérias gram-negativas por parte do ácido *p*-cumárico contra *Salmonella Typhimurium* e *Shigella dysenteriae* (Lou *et al*., 2012), ação inibitório do ácido vanílico sobre *Escherichia coli* e *Proteus mirabilis* (Alves *et al*., 2013; Teke *et al*., 2011), efeito inibitório da rutina sobre *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter baumannii* (Orhan *et al*., 2010). No que toca a bactérias gram-positivas, os ácidos 2,4-dihidroxibenzoico e protocatéquico possuem atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (MSSA) e *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Listeria monocytogenes* e *Streptococcus agalactiae*, sendo que o ácido 2,4-dihidroxibenzoico apresentam também atividade contra *Enterococcus faecalis*, o ácido ferúlico e cafeico possuem ação inibitória contra MSSA, MRSA e *Staphylococcus epidermidis*, os ácidos siríngico e elágico possuem atividade antibacteriana contra

Listeria monocytogenes e o ácido cinâmico contra *Streptococcus agalactiae* (Alves *et al*., 2013). É de salientar ainda que os compostos fenólicos apresentam uma maior capacidade de ação antibacteriana sobre MRSA do que MSSA através da inibição do PBP2a, proteína codificada pelo gene *mecA*, pela formação de pontes de hidrogénio entre a proteína e os compostos fenólicos contribuindo para isso a presença do grupo carboxilo, de dois grupos hidroxilo na posição *para* e *orto* do anel benzénico, bem como a presença de um grupo metoxilo na posição *meta* (Alves *et al*., 2013).

Por outro lado diversos estudos demonstraram também capacidade antibacteriana aos flavonóides, destacando-se entre eles a apigenina, galangina, pinocembrina, ponciretina, naringina e naringenina, epigalhocatequina galhato e seus derivados, luteolina e luteolina-7-glicosídeo, quercetina e diversos dos seus glicosídeos, canferol, entre muitas outras flavonas, isoflavonas, flavanonas, flavonóis e chalconas (Cushnie e Lamb, 2005). Entre os diversos mecanismos de ação dos flavonóides destacam-se a sua capacidade de inibição da produção da síntese de ácidos nucleicos, a capacidade de inibição da função da membrana citoplasmática e a inibição do metabolismo energético (Cushnie e Lamb, 2005).

Os compostos fenólicos robinetina, miricetina e epigalhocatequina inibem a síntese de ADN em *Proteus Vulgaris* e de ARN em *Staphylococcus aureus*, sendo sugerido que para esse facto o anel B dos flavonóides tem um papel importante na intercalação ou na criação de pontes de hidrogénio com o empilhamento das bases dos ácidos nucleicos (Cushnie e Lamb, 2005; Mori *et al*., 1987). Do mesmo modo é também conhecida a ação antibacteriana de 14 flavonóides, entre os quais a quercetina, a apigenina e 3,6,7,3',4'-pentahidroxiflavona, contra *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Stenotrophomonas maltophilia*, bem como ação inibitória sobre a ADN girase da *Escherichia coli* através da ligação do flavonóide a subunidade GyrB da enzima e inibição da atividade da sua ATPase. É de salientar ainda que a hidroxilação do anel B dos flavonóides parece ser importante para a inibição desta enzima (Cushnie e Lamb, 2005; Ohemeng *et al*., 1993; Plaper *et al*., 2003). Por outro lado foi também demonstrada a inibição do crescimento da *Escherichia coli* pela rutina através da indução da clivagem do ADN mediada pela topoisomerase IV (Cushnie e Lamb, 2005; Bernard *et al*., 1997).

Relativamente à ação antimicrobiana exercida pelos compostos fenólicos associada com as alterações da membrana citoplasmática, foi demonstrado que este processo ocorre de duas formas, através da alteração da permeabilidade da membrana bem como a formação de agregados multicelulares. Assim, compostos como a galangina ou o epicatequina galhato demonstraram que atuam primeiramente danificando as membranas bacterianas, demonstrado pelo fuga de moléculas essenciais como o potássio ou a incorporação de um marcador fluorescente em *Staphylococcus aureus*, bem como a formação de agregados pseudomulticelulares de *Staphylococcus aureus* tratados com epicatequina galhato e epicatequina-3-*O*-octanoiol (Cushnie *et al*., 2005; Stapleton *et al*., 2004). Por outro lado, o aumento da permeabilidade da membrana interna bacteriana resultará na dissipação do seu potencial de membrana, ou seja, na alteração do gradiente eletroquímico de protões através da sua membrana, gradiente esse essencial para a manutenção da capacidade de síntese de ATP, o transporte membranar e a motilidade (Cushnie e Lamb, 2005; Mirzoeva *et al*., 1997).

No que toca a inibição do metabolismo energético, duas retrochalconas (lipochalcona A e lipochalcona C) extraídas das folhas de *Glycyrrhiza inflata* apresentaram ação antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* e *Micrococcus luteus* inibindo o consumo de oxigénio através da inibição da NADH-citocromo c redutase (Haraguchi *et al.*, 1998).

Ao nível da relação estrutura/atividade e ação antibacteriana dos flavonóides salienta-se que dentro desta classe, diferentes compostos apresentam alvos diferentes alterando as funções da célula bactéria. Apesar deste facto, a estrutura química destes compostos exerce influência na capacidade antibacteriana (Cushnie e Lamb, 2005). Desta forma a hidroxilação das posições 2',4' e 6' do anel B parecem ser importantes na atividade antibacteriana contra MRSA e diversos *Streptococcus,* bem como a hidroxilação das posições 5 e 7 do anel A (Alcaraz *et al*., 2000; Sato *et al*., 1996; Tsuchiya *et al*., 1996). Em contrapartida, os grupos metoxilo dos flavonóides são descritos como compostos capazes de diminuírem a atividade antibacteriana (Alcaraz *et al*., 2000). Adicionalmente, a substituição das posições C6 e C8 do anel A nas flavanonas por grupos alifáticos de cadeia longa como lavandulil e geranil, aumenta a capacidade anti-MRSA (Cushnie e Lamb, 2005; Tsuchiya *et al*., 1996). Por fim é

reportado também a importância da hidroxilação da posição 2' do anel A em chalconas na atividade contra *Streptococcus* e *Staphylococcus aureus* (Alcaraz *et al.*, 2000; Sato *et al.*, 1997).

A atividade antivírica também está descrita nos flavonóides. De facto, alguns estudos descrevem atividade antivírica contra o vírus da imunodeficiência humana (VIH), particularmente o VIH-1 inibindo a sua capacidade infeciosa e a sua replicação. Esta ação ocorre essencialmente pela inibição da entrada em células que expressem CD4 e co-recetores de quimiocina, bem como pela inibição de enzimas como a VIH-1 transcriptase reversa, a VIH-1 integrase e a VIH-1 proteínase (Brinkworth *et al*., 1992; Kim *et al*., 1998; Li *et al*., 2000; Li *et al*., 1993). É de salientar, no entanto, que em alguns casos a inibição destas enzimas é uma inibição não específica, como são os casos das catequinas e a VIH-1 transcriptase reversa e da miricetina com a VIH-1 integrase (Cushnie e Lamb, 2005; Moore e Pizza, 1992; Ono *et al*., 1990). Por outro lado, é também conhecida a ação antivírica de diversos flavonóides, entre eles a quercetina, a rutina, a pelargonidina, a catequina, a crisina, canferol e a galangina para com vários outros vírus, como os herpes simplex vírus (HSV), o poliovírus, o coronavírus e o rotavírus. Os mecanismos de ação propostos incluem a inibição das polimerases virais e ligação aos ácidos nucleicos ou proteínas da cápside viral (Cushnie e Lamb, 2005).

Por último em virtude da conhecida capacidade generalizada dos compostos fenólicos em inibir a germinação de esporos de fitopatógenos, tem sido também demostrado a sua potencial capacidade antifúngica em humanos. Compostos como os 3-flavanóis e ácidos fenólicos presentes no vinho, bem como os elagitaninos das amoras apresentam efeito inibitório sobre *Candida albicans* (Nohynek *et al*., 2006; Papadopoulou *et al*., 2005).

V. CONCLUSÃO

A dieta mediterrânica é uma dieta alimentar baseada na idealização de alguns padrões alimentares dos países mediterrâneos, caso de Portugal, Espanha, França, Itália, entre outros. Este tipo de padrão alimentar tem sido associado a uma menor incidência de certas doenças, tais como as doenças cardiovasculares, bem como a uma maior longevidade. Algumas das características principais deste tipo de alimentação são o elevado consumo de frutas e legumes, pão e outros cereais, azeite e consumo moderado de vinho tinto.

Os compostos fenólicos são divididos essencialmente em quatro classes, os ácidos fenólicos, as cumarinas, os flavonóides e os taninos. A forte atividade antioxidante confere-lhes ainda ações benéficas para a saúde, como ação anticarcinogénica, pela regulação da expressão de genes supressores de tumores e oncogenes via modulação epigenética; a ação cardioprotetora, pela redução da oxidação das LDL-C, a modulação da cascata inflamatória, a melhoria da função vascular, o efeito protetor em complicações aterotrombóticas e a inibição da agregação das plaquetas; a ação anti-inflamatória, através da redução do estímulo pró-inflamatório e da produção de citoquinas, da inibição de enzimas envolvidas na cascata inflamatória e a modulação de fatores de transcrição; e a ação antienvelhecimento, pela mimetização da restrição calórica e ativação das sirtuínas. Adicionalmente os compostos fenólicos apresentam também propriedades antimicrobianas, devendo-a essencialmente à sua capacidade de inibição da síntese de ácidos nucleicos, a capacidade de inibição da função da membrana citoplasmática e a inibição do metabolismo energético.

Sabendo que os frutos são uma fonte natural de compostos bioativos, neste trabalho foram descritos os principais compostos fenólicos presentes em alguns frutos portugueses e de maior consumo nacional. A maçã, pera e as uvas de mesa são alguns do frutos mais consumidos em Portugal, e por esse motivo aqui referidos. O perfil fenólico diversificado destes frutos, destacando-se os ácidos hidroxicinâmicos e hidroxibenzóicos, catequinas e flavonóis, indicam que para além do contributo para a promoção da saúde em geral, devem ser consumidos com frequência dado serem uma das principais fontes de polifenóis na dieta portuguesa. Por outro lado alguns frutos

portugueses utilizados em produtos tradicionais (compostas, geleias, licores), de que são exemplos o marmelo, o medronho, o abrunho e o figo, apresentaram-se também como uma excelente fonte de compostos fenólicos.

Desta forma é importante salientar que algumas das ações benéficas para a saúde decorrentes do consumo de frutos podem ser associadas aos compostos fenólicos presentes nos mesmos. Tais compostos podem funcionar na prevenção do aparecimento de doenças crónicas através da diminuição da formação de espécies reativas e do seu dano causado. Por outro lado, a ação antimicrobiana aqui descrita poderá servir na procura de novos compostos antimicrobianos, cujos mecanismos de ação sejam diferentes dos já existentes e, consequentemente mais eficazes.

No entanto, tais atividades benéficas para a saúde não apresentam universalidade na sua ação, havendo muitas vezes diferenças significativas entre a sua atividade *in vitro* e *in vivo*. Tais diferenças justificam-se com a variação na biodisponibilidade destes compostos, consequência das diferenças na solubilidade dos compostos no meio, na absorção e na metabolização. Por outro lado, verificam-se também em muitos casos diferenças significativas na atividade dos compostos fenólicos estudados isoladamente e a ação dos mesmos em extratos de frutos, sendo a ação sinérgica dos diferentes compostos do fruto muitas vezes responsáveis por essas diferenças.

VI. BIBLIOGRAFIA

Afonso J, Passos CP, Coimbra MA, Silva CM, Soares-da-Silva P. (2013). Inhibitory effect of phenolic compounds from grape seeds (*Vitis vinifera* L.) on the activity of angiotensin I converting enzyme. *LWT - Food Science and Technology*, 54: 265-270.

Alarcón-Flores MI, Romero-González R, Vidal JLM, Frenich AG. (2013). Multiclass determination of phytochemicals in vegetables and fruits by ultra high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 141: 1120-1129.

Alcaráz LE, Blanco SE, Puig ON,Tomás F, Ferretti FH. (2000). Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Theoretical Biology*, 205: 231–240.

Ali K, Maltese F, Fortes AM, Pais MS, Choi YH, Verpoorte R. (2011). Monitoring biochemical changes during grape berry development in Portuguese cultivars by NMR spectroscopy. *Food Chemistry*, 124: 1760-1769.

Alves MJ, Ferreira IC, Froufe HJ, Abreu RM, Martins A, Pintado M. (2013). Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. *Journal of Applied Microbiology*, 115(2): 346-357.

Andjelkovic M, Camp JV, Meulenaer BD, Depaemelaere G, Socaciu C, Verloo M, Verhe R. (2006). Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food Chemistry*, 98: 23-31.

Andrade PB, Carvalho ARF, Seabra RM, Ferreira MA. (1998). A previous study of phenolic profiles of quince, pear, and apple purees by HPLC diode array detection for the evaluation of quince puree genuineness. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 968-972.

Andrade PB, Mendes G, Falco V, Valentão P, Seabra RM. (2001). Preliminary study of flavonols in port wine grape varieties. *Food Chemistry*, 73: 397-399.

Androutsopoulos VP, Papakyriakou A, Vourloumis D, Spandidos DA. (2011). Comparative CYP1A1 and CYP1B1 substrate and inhibitor profile of dietary flavonoids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19: 2842-2849.

Bacalini MG, Friso S, Olivieri F, Pirazzini C, Giuliani C, Capri M, Santoro A, Franceschi C, Garagnani P. (2014). Present and future of anti-ageing epigenetic diets. *Mechanisms of Ageing and Development*, 136-137: 101-115.

Bakhouche A, Lozano-Sánchez J, Beltrán-Debón R, Joven J, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. (2013). Phenolic characterization and geographical classification of commercial Arbequina extra-virgin olive oils produced in southern Catalonia. *Food Research International*, 50: 401-408.

Balange AK, Benjakul S. (2009). Effect of oxidised phenolic compounds on the gel property of mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) surimi. *LWT - Food Science and Technology*, 42:1059-1064.

Balasundram N, Sundram K, Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.

Barbehenn RV, Constabel PC. (2011). Tannins in plant–herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72: 1551-1565.

Barrera G. (2012). Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy. *ISRN Oncology*, 2012: 1-21.

Barroca MJ, Guiné RPF, Pinto A, Gonçalves FM, Ferreira DMS. (2006). Chemical and Microbiological Characterization of Portuguese Varieties of Pears. *Food and Bioproducts Processing*, 84 (C2): 109-113.

Bashir AK, Abdalla AA, Wasfi IA, Hassan ES, Amiri MH, Crabb TA. (1994). Flavonoids of *Limonium axillare*. *International Journal of Pharmacognosy*; 32(4): 366–372.

Basile A, Sorbo S, Giordano S, Ricciardi L, Ferrara S, Montesanto D, Cobianchi CR, Vuotto ML, Ferrara L. (2000). Antibacterial and allelopathic activity of extract from *Castanea sativa* leaves. *Fitoterapia*, 71: S110–6.

Batra P, Sharma AK. (2013). Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. *Biotechnology Journal*, 3: 439-459.

Berdowska I, Zielinski B, Fecka I, Kulbacka J, Saczko J, Gamian A. (2013). Cytotoxic impact of phenolics from *Lamiaceae* species on human breast cancer cells. *Food Chemistry*, 141: 1313-1321.

Bernard, F.X, Sablé S, Cameron B, Provost J, Desnottes JF, Crouzet J, Blanche F. (1997). Glycosylated flavones as selective inhibitors of topoisomerase IV. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 41(5): 992–998.

Biasi F, Guina T, Maina M, Cabboi B, Deiana M, Tuberoso CI, Calfapietra S, Chiarpotto E, Sottero B, Gamba P, Gargiulo S, Brunetto, Testa G, Dessì MA, Poli G, Leonarduzzi G.(2013). Phenolic compounds present in Sardinian wine extracts protect against the production of inflammatory cytokines induced by oxysterols in CaCo-2 human enterocyte-like cells. *Biochemical Pharmacology*, 86: 138-145.

Born SL, Api AM, Ford RA, Lefever FR, Hawkins DR. (2003). Comparative metabolism and kinetics of coumarin in mice and rats. *Food and Chemical Toxicology*, 41: 247-258.

Boudet A-M. (2007). Evolution and current status of research of in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68: 2722-2735.

Boudjou S, Oomah BD, Zaidi F, Hosseinian F. (2013). Phenolics content and antioxidant and anti-inflammatory activities of legume fractions. *Food Chemistry*, 138: 1543-1550.

Bradamante S, Barenghi L, Piccinini F, Bertelli AAE, Jonge RD, Beemster P, Jong JWD. (2003). Resveratrol provides late-phase cardioprotection by means of a nitric oxide- and adenosine-mediated mechanism. *European Journal of Pharmacology*, 465: 115-123.

Bravo MN, Silva S, Coelho AV, Vilas Boas L, Bronze MR. (2006). Analysis of phenolic compounds in Muscatel wines produced in Portugal. *Analytica Chimica Acta*, 563: 84-92.

Brinkworth RI, Stoermer MJ, Fairlie DP. (1992). Flavones are inhibitors of HIV-1 proteinase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 188: 631–637.

Brown JE. (1998). Structural dependence of flavonoid interactions with Cu^{2+} ions: implications for their antioxidant properties. *Biochemical Journal*, 330: 1173-1178.

Cabrera A, Mach N. (2012). Flavonoides como agentes quimiopreventivos y terapéuticos contra el cáncer de pulmón. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 16(4): 143-153.

Cao G, Sofic E, Prior RL. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology & Medicine*, 22 (5): 749-760.

Cassidy A. Kay C. (2013). Phytochemicals: Classification and Ocurrance. *In*: Caballero B, Allen L, Prentice A. (Ed.). Encyclopedia of Human Nutrition. *Third Edition*. Elsevier, pp. 1388-1395.

Castillo-Sánchez JX, García-Falcón MS, Garrido J, Martínez-Carballo E, Martins-Dias LR, Mejuto XC. (2008). Phenolic compounds and colour stability of Vinhão wines: Influence of wine-making protocol and fining agents. *Food Chemistry*, 106: 18-26.

Céspedes CL, El-Hafidi M, Pavon N, Alarcon J. (2008). Antioxidant and cardioprotective activities of phenolic extracts from fruits of Chilean blackberry *Aristotelia chilensis* (Elaeocarpaceae), Maqui. *Food Chemistry*, 107: 820-829.

Chahar MK, Sharma N, Dobhal MP, Joshi YC. (2011). Flavonoids: A versatile source of anticancer drugs. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9): 1-12.

Chunglong C, Song L, Rongsu L, Fengping W, Junqpin Li. (2008). Concentration of phenolic compounds of *Populus euphratica* and soil water contents in Ejina oasis,Inner Mongolia, China. *Acta Ecologica Sinica*, 28 (1): 69-75.

Cicerale S, Lucas LJ, Keast RSJ. (2012). Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil. *Biotechnology*, 23: 129-135.

Cook NC, Samman S. (1996). Flavonoids- Chemistry, metabolins, cardioprotective effects, and dietary sources. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 7: 66-76.

Cos P,Ying L, Calomme M, Hu JP, Cimanga K, Van Poel B, Pieters L, Vlietinck AJ, Berghe DV. (1998). Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products*, 61: 71-76.

Costa R. (2009). Avaliação do Potencial Antioxidante da Folha de *Cydonia oblonga* Miller. Monografia. Porto, Universidade Fernando Pessoa.

Cushnie TPT, Lamb AJ. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343-356.

Cushnie TPT, Lamb AJ. (2005). Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *Journal of Ethnopharmacology*, 101: 243–248.

Detsi A, Majdalani M, Kontogiorgis CA, Hadjipavlou-Litina D, Kefala, P. (2009). Natural and synthetic 20-hydroxy-chalcones and aurones: Synthesis, characterization and evaluation of the antioxidant and soybean lipoxygenase inhibitory activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17: 8073-8085.

Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H. (2002). Free radical-induced damage to DNA mechanisms and measurement. *Free Radical Biology & Medicine*, 32(11): 1102-1115.

Dospico-García MS, Fique A, Guerra L, Afonso JM, Pereira O, Valentão P, Andrade PB, Seabra RM. (2008). Principal components of phenolics to characterize red *Vinho Verde* grapes: Anthocyanins or non-coloured compounds? *Talanta*, 75: 1190-1202.

Elizondo AM, Mercado EC, Rabinovitz BC, Fernandez-Miyakawa ME. (2010). Effect of tannins on the in vitro growth of *Clostridium perfringens*. *Veterinary Microbiology*, 145: 308-314.

Esteller M. (2008). Epigenetics in cancer. *The New England Journal of Medicine*, 358(11): 1148– 1159.

Fang J-G, Lu M, Chen ZH, Zhu HH, Li Y, Yang L, Wu LM, Liu ZL. (2002). Antioxidant effect of resveratrol and its analogues against the free-radical-induced peroxidation of linoleic acid in micelles. *European Journal of Chemistry*, 8: 4191-4198.

Feliciano RP, Antunes C, Ramos A, Serra AT, Figueira ME, Duarte CMM, Carvalho dA, Bronze MR. (2010). Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1 – Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *Journal of Functional Foods*, 2: 35-45.

Fontana L. (2009). Scientific basis of caloric restriction leading to longer life. Current opinion in gastroenterology, 25(2): 144-150.

Foti M, Piattelli M, Baratta, MT, Ruberto G. (1996). Flavonoids, coumarins and cinnamic acids as antioxidants in a micellar system. Structure-activity relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 497-501.

Friedman M. (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51: 116-134.

Fukumoto LR, Mazza G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 3597-3604.

Funatogawa K, Hayashi S. Shimomura H, Yoshida T, Hatano T, Ito H, Hirai Y. (2004). Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. *Microbiology and Immunology*, 48(4): 251-261.

Georgiev V, Ananga A, Tsolova V. (2014). Recent Advances and Uses of Grape Flavonoids as Nutraceuticals. *Nutrients*, 6: 391-415.

Giasson BI, Ischiropoulos H, Lee VM, Trojanowski JQ. (2002). The relationship between oxidative/nitrative stress and pathological inclusions in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Free Radical Biology & Medicine,* 32: 1264-1275.

Gómez-Serranillos MP, Martín S, Ortega T, Palomino OM, Prodanov M, Vacas V, Hernández T, Estrella I, Carretero ME. (2009). Study of red wine neuroprotection on astrocytes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64 (4): 238-243.

González-Gallego J, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ. (2007). Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutrición Hospitalaria*, 22(3): 287-293.

Guimarães R, Barros L, Dueñas M, Carvalho AM, Queiroz MJRP, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR. (2013). Characterisation of phenolic compounds in wild fruits from Northeastern Portugal. *Food Chemistry*, 141: 3721-3730.

Guo Z, Mitchell-Raymundo F, Yang H, Ikeno Y, Nelson J, Diaz V, Richardson A, Reddick R. (2002). Dietary restriction reduces atherosclerosis and oxidative stress in the aorta of apolipoprotein E-deficient mice. *Mechanisms of Ageing and Development*, 123(8): 1121-1131.

Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. (2009). The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nature Reviews Genetics*, 10: 32–42

Halliwell B, Gutteridge JMC. (2007). Free Radicals in Biology and Medicine. *Oxford University Press*, 3(9): 617-783.

Haraguchi H, Tanimoto K, Tamura Y, Mizutani K, Kinoshita T. (1998). Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*, 48: 125–129.

Hässig A, Liang WX, Schwabl H, Stampfli K. (1999). Flavonoids and tannins: plant-based antioxidants with vitamin character. *Medical Hypotheses*, 52: 479-481.

He L, Hannon GJ. (2004). MicroRNAs: small RNAs with a big role in gene regulation. *Nature Reviews Genetics*, 5: 522–531.

Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.

Hodek P, Trefil P, Stiborová M. (2002). Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*, 139: 1-21.

Hoong YB, Pizzi A, Tahir PMd, Pasch H. (2010). Characterization of *Acacia mangium* polyflavonoid tannins by MALDI-TOF mass spectrometry and CP-MAS 13C NMR. *European Polymer Journal*, 46: 1268-1277.

Hort MA, Straliotto MR, Duz MS, Netto PM, Souza CB, Schulz T, Horst H, Pizzolatti MG, Bem AFd, Ribeiro-do-Valle RM. (2012). Cardioprotective effects of a proanthocyanidin-rich fraction from *Croton celtidifolius* Baill: Focus on atherosclerosis. *Food and Chemical Toxicology*, 50: 3769-3775.

Hurtado-Fernández E, Gómez-Romero M, Carrasco-Pancorbo A, Fernández-Gutiérrez A. (2010). Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53 (15): 1130-1160.

Instituto Nacional de Estatística (2013). [Em Linha] Disponível em < http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000163&contexto=bd&selTab=tab2>. [Consultado em 06/09/2014]

Issa JP, Kantarjian HM. (2009). Targeting DNA methylation. *Clinical Cancer Research*, 15(12): 3938–3946.

Jolly CA, Muthukumar A, Avula CP, Troyer D, Fernandes G. (2001). Life span is prolonged in food-restricted autoimmune-prone (NZB x NZW)F(1) mice fed a diet enriched with (n-3) fatty acids. *Journal Nutrition*, 131 (10): 2753-2760.

Junior DRA, Souza RB, Santos SA, Andrade DR. (2005). Os radicais livres de oxigénio e as doenças pulmonares. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 31(1): 60-68.

Kaneko T, Baba TN, Matsuo M. (2003). Protection of coumarins against linoleic acid hydroperoxide-induced cytotoxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 142: 239-254.

Kassim M, Achoui M, Mustafa MR, Mohd MA, Yusoff KM. (2010). Ellagic acid, phenolic acids, and flavonoids in Malaysian honey extracts demonstrate in vitro anti-inflammatory activity. *Nutrition Research*, 30: 650-659.

Kazłowska K, Hsu T, Hou C-C, Yang W-C, Tsai G-J. (2010). Anti-inflammatory properties of phenolic compounds and crude extract from *Porphyra dentata*. *Journal of Ethnopharmacology*, 128: 123-130.

Khanizadeh S, Tsao R, Rekika D, Yang R, Charles MT, Rupasinghe HPV. (2008). Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21: 396-401.

Kim D-O, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3713-3717.

Kim HJ, Woo ER, Shin CG, Park H. (1998). A new flavonol glycoside gallate ester from *Acer okamotoanum* and its inhibitory activity against human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) integrase. *Journal of Natural Products*, 61: 145–148.

Kouzarides T. (2007). Chromatin modifications and their function. *Cell*, 128: 693–705.

Kunwar A, Priyadarsini KI. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal Medical & Allied Sciences*, 1(2): 53-60.

Lake BG. (1999). Coumarin Metabolism, Toxicity and Carcinogenicity: Relevance for Human Risk Assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 423-453.

Lastra CA, Villegas I. (2005). Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: Mechanisms and clinical implications. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49: 405-430.

Leifert WR, Abeywardena MY. (2008). Cardioprotective actions of grape polyphenols. *Nutrition Research*, 28: 729-737.

Li BQ, Fu T, Yan YD, Baylor NW, Ruscetti FW, Kung HF. (1993). Inhibition of HIV infection by baicalin — a flavonoid compound purified from Chinese herbal medicine. *Cellular & Molecular Biology Research*, 39: 119–124.

Li BQ, Fu T, Dongyan Y, Mikovits JA, Ruscetti FW, Wang JM. (2000). Flavonoid baicalin inhibits HIV-1 infection at the level of viral entry. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 276: 534–538.

Liao KL, Yin MC. (2000). Individual and combined antioxidant effects of seven phenolic agents in human erythrocyte membrane ghosts and phosphatidylcholine liposome systems: importance of the partition coefficient. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 48: 2266-2270.

Liebler DC, Reed DJ. (1997). Free-radical defense and repair mechanisms. *In*: Wallace, KB. (Ed.). *Free Radical Toxicology*. Taylor & Francis, pp. 141-173.

Lin H-C, Tsai SH, Chen CS, Chang YC, Lee CM, Lai ZY, Lin CM. (2008). Structure–activity relationship of coumarin derivatives on xanthine oxidase-inhibiting and free radical-scavenging activities. *Biochemical Pharmacology*, 75: 1416-1425.

Link A, Balaguer F, Goel A. (2010). Cancer chemoprevention by dietary polyphenols promising role for epigenetics. *Biochemical Pharmacology*, 80: 1771-1792.

Liu RH. (2013). Dietary Bioactive Compounds and Their Health Implications. *Journal of Food Science*, 78(S1): A18-A25.

Liu C-J, Lin J-Y. (2013). Anti-inflammatory effects of phenolic extracts from strawberry and mulberry fruits on cytokine secretion profiles using mouse primary splenocytes and peritoneal macrophages. *International Immunopharmacology*, 16: 165-170.

Lobo V, A. Patil, A. Phatak, N. Chandra. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8): 118-126.

Loo G. (2003). Redox sensitive mechanisms of phytochemical-mediated inhibition of cancer cell proliferation. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 14: 63-73.

Lou Z, Wang H, Rao S, Sun J, Ma C, Li J. (2012). *p*-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control*, 25: 550–554.

Luque-Rodríguez JM, Castro MDL, Pérez-Juan P. (2007). Dynamic superheated liquid extraction of anthocyanins and otherphenolics from red grape skins of winemaking residues. *Bioresource Technology*, 98: 2705-2713.

Lund AH, Van LM. (2004). Epigenetics and cancer. *Genes & Development*, 18: 2315–2335.

Magalhães ASM. (2009). Estudo do efeito protector da espécie *Cydonia oblonga* Miller na danificação oxidativa em eritrócitos humanos. Monografia. Porto, Universidade Fernando Pessoa.

Maswood N, Young J, Tilmont E, Zhang Z, Gash DM, Gerhardt GA, Grondin R, Roth GS, Mattison J, Lane MA, Carson RE, Cohen RM, Mouton PR, Quigley C, Mattson MP, Ingram DK. (2004). Caloric restriction increases neurotrophic factor levels and attenuates neurochemical and behavioral deficits in a primate model of Parkinson's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(52): 18171-18176.

Mattila P, Hellstrom J. (2007). Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 152-160.

McCarty MF. (2004). Proposal for a dietary "phytochemical index". *Medical Hypotheses*, 63: 813-817.

McCay CM, Crowel MF, Maynard LA. (1935). The effect of retarded growth upon the length of the life span and upon the ultimate body size. *Journal of Nutrition*, 10: 63-79.

Mirzoeva OK, Grishanin RN, Calder PC. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*, 152: 239–246.

Moderno P. (2009). Chá: da crença popular à verdade científica. Monografia. Porto, Universidade Fernando Pessoa.

Moore PS, Pizza C. (1992). Observations on the inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by catechins. *Biochemical Journal*, 288: 717–719.

Mori A, Nishino C, Enoki N, Tawata S. (1987). Antibacterial activity and mode of action of plant flavonoids against *Proteus vulgaris* and *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*, 26: 2231–2234.

Myhrstad MCW, Carlsen H, Nordström O, Blomhoff R, Moskaug JØ. (2002). Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the γ-glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. *Free radical biology medicine*. 32: 386-393.

Nahar PP, Driscoll MV, Li L, Slitt AL, Seeram NP. (2014). Phenolic mediated anti-inflammatory properties of a maple syrup extract in RAW 264.7 murine macrophages. *Journal of Functional Foods*, 6: 126-136.

Nicoloso MS, Spizzo R, Shimizu M, Rossi S, Calin GA. (2009). MicroRNAs–the micro steering wheel of tumour metastases. *Nature Reviews Cancer*, 9: 293– 302.

Nohynek LJ, Alakomi HL, Kähkönen MP, Heinonen M, Helander IM, Oksman-Caldentey KM, Puupponen-Pimiä RH. (2006). Berry Phenolics: Antimicrobial Properties and Mechanisms of Action Against Severe Human Pathogens. *Nutrition and Cancer*, 54(1): 18-32.

Novak I, Janeiro P, Seruga M, Oliveira-Brett AM. (2008). Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytica Chimica Acta*, 630: 107-115.

Nowakowska Z. (2007). A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42: 125-137.

Ohemeng KA, Schwender CF, Fu KP, Barrett JF. (1993). DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 3: 225–230.

Oliveira AP, Valentão P, Pereira JA, Silva BM, Tavares F, Andrade PB. (2009). *Ficus carica* L.: Metabolic and biological screening. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 2841-2846.

Ono K, Nakane H, Fukushima M, Chermann JC, Barré-Sinoussi F. (1990). Differential inhibitory effects of various flavonoids on the activities of reverse transcriptase and cellular DNA and RNA polymerases. *European Journal of Biochemistry*, 190: 469–476.

Orak HH. (2007). Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Scientia Horticulturae*, 111: 235-241.

Orhan DD, Ozçelik B, Ozgen S, Ergun F. (2010). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. *Microbiological Research*, 165: 496–500.

Ozacar M, Sengil A. (2000). Effectiveness of tannins obtained from valonia as a coagulant aid for dewatering of sludge. *Water Research*, 34 (4): 1407-1412.

Pallàs M, Junyent F, Verdaguer E, Beas-Zarate C, Camins A. (2010). Aging control with resveratrol. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*, 7(3-4): 51-56.

Pallauf K, Bendall JK, Scheiermann C, Watschinger K, Hoffmann J, Roeder T, Rimbach G. (2013). Vitamin C and lifespan in model organisms. *Food and Chemical Toxicology*, 58: 255-263.

Papadopoulou C, Soulti K, Roussis IG. (2005). Potential antimicrobial activity of red and white winep extracts against strains of *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Candida albicans*. *Food Technology and Biotechnology*, 43(1): 41-46.

Parr AJ, Bolwell GP. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 985-1012.

Patel NV, Gordon MN, Connor KE, Good RA, Engelman RW, Mason J, Morgan DG, Morgan TE, Finch CE. (2005). Caloric restriction attenuates Ab-deposition in Alzheimer transgenic models. *Neurobiology Aging*, 26(7): 995-1000.

Peng X-M, Damu GL, Zhou C. (2013). Current developments of coumarin compounds in medicinal chemistry. *Current Pharmaceutical Design*, 19: 3884-3930.

Perestrelo R, Lu Y, Santos SAO, Silvestre AJD, Neto CP, Câmara JS, Rocha SM. (2012). Phenolic profile of Sercial and Tinta Negra *Vitis vinifera* L. grape skins by HPLC–DAD–ESI-MS^n Novel phenolic compounds in *Vitis vinifera* L. Grape. *Food Chemistry*, 135: 94-104.

Peterson J, Dwyer J. (1998). Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18(12): 1995-2018.

Pietta PG. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63: 1035-1042.

Pimpão RC, Dew T Oliveira PB, Williamson G, Ferreira RB, Santos CN. (2013). Analysis of phenolic compounds in Portuguese wild and commercial berries after multienzyme hydrolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 4053-4062.

Plaper A, Golob M, Hafner I, Oblak M, Solmajer T, Jerala R. (2003) Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 306: 530–536.

Poulsen HE. (2005). Oxidative DNA modifications. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 57: 161-169.

Ramos R, Andrade PB, Seabra RM, Pereira C, Ferreira MA, Faia MA. (1999). A preliminary study of non-coloured phenolics in wines of varietal white grapes (códega, gouveio and malvasia fina): effects of grape variety, grape maturation and technology of winemaking. *Food Chemistry*, 67: 39-44.

Ravishankar D, Rajora AK, Greco F, Osborn HMI. (2013). Flavonoids as prospective compounds for anti-cancer therapy. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 45: 2821-2831.

Repetto M, Semprine J, Boveris A. (2012). Lipid peroxidation: chemical mechanism, biological implications and analytical determination. *In*: Marisa Repetto, Jimena Semprine and Alberto Boveris (2012). [Em Linha] Disponível em <http://www.intechopen.com/books/lipid-peroxidation/lipid-peroxidation-chemical-mechanism-biological-implications-and-analytical-determination >. [Consultado em 20/12/2014].

Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*, 22: 375-383.

Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. (1996). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, 20: 933–956.

Ryan D, Antolovich M, Prenzler P, Robards K, Lavee S. (2002). Biotransformations of phenolic compounds in *Olea europaea L*. *Scientia Horticulturae*, 92: 147-176.

Saldaña MDA, Tomberli B, Guigard SE, Goldman S, Gray CG, Temelli F. (2007). Determination of vapor pressure and solubility correlation of phenolic compounds in supercritical CO2. *Journal of Supercritical Fluids*, 40: 7-19.

Salta J, Martins A, Santos RG, Neng NR, Nogueira JMF, Justino J, Rauter AP. (2010). Phenolic composition and antioxidant activity of *Rocha* pear and other pear cultivars – A comparative study. *Journal of Functional Foods*, 2: 153-157.

Salvi A, Carrupt P, Tillement J, Testa B. (2001). Structural damage to proteins caused by free radicals: asessment, protection by antioxidants, and influence of protein binding. *Biochemical Pharmacology*, 61: 1237-1242.

Sánchez-Tena S, Vizán P, Dudeja PK, Centelles JJ, Cascante M. (2013). Green tea phenolics inhibit butyrate-induced differentiation of colon cancer cells by interacting with monocarboxylate transporter 1. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1832: 2264-2270.

Sato M, Shuu Fujiwara, Hironori Tsuchiya, Teruhisa Fujii, Munekazu Iinuma, Hideki Tosa, Yasutoshi Ohkawa. (1996). Flavones with antibacterial activity against cariogenic bacteria. *Journal of Ethnopharmacology*, 54: 171–176.

Sato M, Tsuchiya H, Akagiri M, Takagi N, Iinuma M. (1997). Growth inhibition of oral bacteria related to denture stomatitis by anticandidal chalcones. *Australian Dental Journal*, 42: 343–346.

Schofield P, Mbugua DM, Pell AN. (2001). Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Tecnology*, 91: 21-40.

Seabra RM, Andrade PB, Valentão P, Fernandes E, Carvalho F, Bastos ML. (2006). Anti-oxidant compounds extracted from several plant materials. *In*: *Biomaterials from aquatic and terrestrial organisms*. Fingerman, M, Nagabhushanam R. (Eds.). *Science Publishers*, Enfield (New Hampshire), USA, pp. 115-174

Sergent T, Piront N, Meurice J, Toussaint O, Schneider YJ. (2010). Anti-inflammatory effects of dietary phenolic compounds in an in vitro model of inflamed human intestinal epithelium. *Chemico-Biological Interactions*, 188: 659-667.

Shahidi F, Naczk M. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5): 1523-1542.

Shen M, Jia GL, Wang YM, Ma H. (2006). Cardioprotective effect of resvaratrol pretreatment on myocardial ischemia–reperfusion induced injury in rats. *Vascular Pharmacology*, 45: 122-126.

Shetty K. (2004). Role of proline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications: a review. *Process Biochemistry*. 39: 789-803.

Silanikove N, Perevolotsky A, Provenza FD. (2001). Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 69-81.

Si H, Liu D. (2014). Dietary antiaging phytochemicals and mechanisms associated with prolonged survival. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 25: 581-591.

Sies H. (1993). Strategies of antioxidant defence. *European Journal Biochemistry*. 215: 213-219.

Sies H, Stahl W. (1995). Vitamins E and C, β-carotene, and other carotenoids as antioxidants. *American Society for Clinical Nutrition*, 62: 1315S-21S.

Silva BM, Andrade PB, Ferreres F, Domingues AL, Seabra RM, Ferreira MA. (2002). Phenolic profile of quince fruit (*Cydonia oblonga* Miller) (pulp and peel). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 4615-4618.

Silva BM, Andrade PB, Valentão P, Ferreres F, Seabra RM, Ferreira MA. (2004). quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit (pulp, peel, and seed) and jam: Antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (15): 4705-4712.

Silva BM, Andrade PB, Martins RC, Valentão P, Ferreres F, Seabra RM, Ferreira MA. (2005). Quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit characterization using principal component analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 111-122.

Silva LR, Andrade PB, Valentão P, Seabra RM, Trujillo ME, Velázquez E. (2005). Analysis of non-coloured phenolics in red wine: Effect of *Dekkera bruxellensis* yeast. *Food Chemistry*, 89: 185-189.

Simón BF, Perez-Ilzarbe J, Hernandez T, Gomez-Cordoves C, Estrella I. (1992). Importance of phenolic compounds for the characterization of fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40 (9): 1531-1535.

Sproll C, Ruge W, Andlauer C, Godelmann R, Lachenmeier DW. (2008). HPLC analysis and safety assessment of coumarin in foods. *Food Chemistry*, 109: 462-469.

Surh YJ, Chun KS, Cha HH, Han SS, Keum YS, Park KK, Lee SS. (2001). Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS through suppression of NF-κB activation. *Mutation Research*, 480-481: 243-268.

Stadtman ER, Levine RL. (2003). Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids*, 25: 207-218.

Stapleton PD, Shah S, Anderson JC, Hara Y, Hamilton-Miller JM, Taylor PW. (2004). Modulation of beta-lactam resistance in Staphylococcus aureus by catechins and gallates. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23: 462–467.

Teke GN, Kuiate JR, Kueté V, Teponno RB, Tapondjou LA, Tane P, Giacinti G, Vilarem G. (2011). Bio-guided isolation of potential antimicrobial and antioxidant agents from the stem bark of *Trilepisium madagascariense*. *South African Journal of Botany*, 77: 319–327.

Tsuchiya H, Sato M, Miyazaki T, Fujiwara S, Tanigaki S, Ohyama M, Tanaka T, Iinuma M. (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 50: 27–34.

Valentão P, Fernandes E, Carvalho F, Andrade PB, Seabra RM, Bastos ML. (2003). Hydroxyl radical and hypochlorous acid scavenging activity of small centaury (*Centaurium erythraea*) infusion. A comparative study with green tea (*Camellia sinensis*). *Phytomedicine*, 10: 517-522.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44-84.

Vaquero MJR, Alberto MR, Nadra MCM. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18: 93-101.

Veličković JM, Kostić DA, Stojanović GS, Mitić SS, Mitić MN, Ranđelović SS, Đorđević AS. (2014). Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activity of the extracts from *Prunus spinosa* L. fruit. *Hemijska Industrija*, 68: 297-303.

Veres B. (2012). Anti-Inflammatory Role of Natural Polyphenols and Their Degradation Products. *In*: Severe Sepsis and Septic Shock - Understanding a Serious Killer, Dr Ricardo Fernandez (Ed.). [Em Linha] Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/severe-sepsis-and-septic-shockunderstanding-a-serious-killer/anti-inflammatory-role-of-natural polyphenolic-compounds>. [Consultado em 16/11/2015].

Vichapong J, Sookserm M, Srijesdaruk V, Swatsitang P, Srijaranai S. (2010). High performance liquid chromatographic analysis of phenolic compounds and their antioxidant activities in rice varieties. *LWT – Food Science and Technology,* 43: 1325-1330.

Vinha AF, Ferreres F, Silva BM, Valentão P, Gonçalves A, Pereira JA, Oliveira MB, Seabra RM, Andrade PB. (2005). Phenolic profiles of Portuguese olive fruits (*Olea europaea* L.): Influences of cultivar and geographical origin. *Food Chemistry*, 89: 561-568.

Walle T. (2007). Methoxylated flavones, a superior cancer chemopreventive flavonoid subclass? *Seminars in Cancer Biology*, 17: 354-362.

Wang Z, Masternak MM, Al-Regaiey KA, Bartke A. (2007). Adipocytokines and the regulation of lipid metabolism in growth hormone transgenic and calorie-restricted mice. *Endocrinology*, 148(6): 2845-2853.

Weindruch R, Walford RL. (1982). Dietary restriction in mice beginning at 1 year of age: effect on life-span and spontaneous cancer incidence. *Science*, 15: 1415-1418.

Weng CJ, Yen GC. (2012). Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: Phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives. *Cancer Treatment Reviews,* 38: 76-87.

Williams RJ, Spencer JPE, Rice-Evans C. (2004). Flavonoids: Antioxidants or signaling molecules? *Free Radical Biology & Medicine,* 36 (7): 838-849.

Wiseman H. (2013). Phytochemicals: Health Effects. *In*: Caballero B, Allen L, Prentice A (Ed.). Encyclopedia of Human Nutrition. *Third Edition*. Elsevier, pp. 1396-1400.

Xi J, Wang H, Mueller RA, Norfleet EA, Xu Z. (2009). Mechanism for resveratrol-induced cardioprotection against reperfusion injury involves glycogen synthase kinase 3β and mitochondrial permeability transition pore. *European Journal of Pharmacology*, 604: 111-116.

Xu Q, Si LY. (2012). Resveratrol role in cardiovascular and metabolic health and potential mechanisms of action. *Nutrition Research,* 32: 648-658.

Yáñez J, Vicente V, Alcaraz M, Castillo J, Benavente-García O, Canteras M, Teruel JA. (2004). Cytotoxicity and antiproliferative activities of several phenolic compounds against three melanocytes cell lines: relationship between structure and activity. *Nutrition and Cancer*, 49(2): 191-199.

Yang CS, Landau JM, Huang MT, Newmark HL. (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual Review of Nutrition,* 21: 381-406.

Yazaki K, Sasaki K, Tsurumaru Y. (2009). Prenylation of aromatic compounds, a key diversification of plant secondary metabolites. *Phytochemistry*, 70 (15-16): 1739-1745.

Yokozawa T, Chen CP, Dong E, Tanaka T, Nonaka GI, Nishioka I. (1998). Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochemical Pharmacology*, 56: 213-222.

Zhang HY, Wang LF. (2004). Theoretical elucidation of structure-activity relationship for coumarins to scavenge peroxyl radical. *Journal of Molecular Structure:* THEOCHEM, 673: 199-202.

Zhang Y, Seeram NP, Lee R, Feng L, Heber D. (2008). Isolation and identification of strawberry phenolics with antioxidant and human cancer cell antiproliferative properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 670-675.

Zingg JM. (2007). Vitamin E: An overview of major research directions. *Molecular Aspects of Medicine*, 28: 400-422.