

# Efectos beneficiosos de extractos de frutas rojas y de sus antocianos

[Beneficial properties of red berries extracts and their anthocyanins]

Maria Rosana RAMIREZ<sup>1\*</sup>, Laura GERACITANO<sup>2</sup>, Daniela MARTI BARROS<sup>2</sup>, Amelia Teresinha HENRIQUES<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Rio Grande do sul (UFRGS). Av. Ipiranga 2752, PoA, RS, Brasil;

<sup>2</sup>Fundação Universidade Federal de Rio Grande (FURG), Av. Itália Km 8, CEP 96.201-900, RS, Brasil.

---

## Abstract

Epidemiological reports have indicated that individuals who consume diets containing large amounts of fruits and vegetables may reduce their risk for developing age-related diseases. These reductions might be expressed as improvements in motor and cognitive behavior. This review summarized data related to *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity of polyphenols, emphasizing the main role of anthocyanins. In particular, their physiological effects, their metabolism, bioavailability as well as their direct interaction with lipids and DNA.

**Keywords:** Red berry; Antioxidant activity; Anthocyanins; DNA.

## Resumen

Los polifenoles constituyen un grupo de sustancias químicas considerados metabolitos secundarios de las plantas. Actualmente existe un renovado interés por estos compuestos en virtud de su actividad antioxidante y sus posibles implicaciones beneficiosas en la salud humana, tales como prevención de enfermedades crónico-degenerativas. En esta revisión, resumimos los datos relacionados con la actividad antioxidante de *in vitro* e *in vivo* de los polifenoles, particularmente los antocianos. Concretamente, sus efectos fisiológicos, su metabolismo, biodisponibilidad así como su interacción directa con moléculas de relevancia biológica como la molécula de ADN y los lípidos.

**Palabras Clave:** Frutas rojas; Antocianos; Actividad antioxidante; ADN.

---

**Recibido | Received:** December 9, 2008.

**Aceptado en Versión Corregida | Accepted in Corrected Version:** May 12, 2009.

**Publicado en Línea | Published Online:** November 30, 2009

**Declaración de intereses | Declaration of interests:** Authors have no competing interests.

**Financiación | Funding:** This work was not financed.

**This article must be cited as:** Maria Rosana Ramirez, Laura Geracitano, Daniela Marti Barros, Amelia Teresinha Henriques. 2009. Efectos beneficiosos de extractos de frutas rojas y de sus antocianos. Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat 8(6):456 – 468. [EPub November 30, 2009].

\*Contactos | Contacts: Email [marianosanar@yahoo.com.br](mailto:marianosanar@yahoo.com.br); [amelia@farmacia.ufrgs.br](mailto:amelia@farmacia.ufrgs.br) Tel: 0055-51-3308-5258 Fax: 0055-51-3308-5437.



BLACPMA es una publicación de la [Cooperación Latinoamericana y Caribeña de Plantas Medicinales y Aromáticas](#)

This is an open access article distributed under the terms of a Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivative Works 3.0 Unported Licence. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>) which permits to copy, distribute and transmit the work, provided the original work is properly cited. You may not use this work for commercial purposes. You may not alter, transform, or build upon this work. Any of these conditions can be waived if you get permission from the copyright holder. Nothing in this license impairs or restricts the author's moral rights.

Este es un artículo de Acceso Libre bajo los términos de una licencia "Atribución Creativa Común-No Comercial-No trabajos derivados 3.0 Internacional" (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/deed.es>) Usted es libre de copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra bajo las condiciones siguientes: Reconocimiento. Debe reconocer los créditos de la obra de la manera especificada por el autor o el licenciadore (pero no de una manera que sugiera que tiene su apoyo o apoyan el uso que hace de su obra). No comercial. No puede utilizar esta obra para fines comerciales. Sin obras derivadas. No se puede alterar, transformar o generar una obra derivada a partir de esta obra. Al reutilizar o distribuir la obra, tiene que dejar bien claro los términos de la licencia de esta obra. Alguna de estas condiciones puede no aplicarse si se obtiene el permiso del titular de los derechos de autor. Nada en esta licencia menoscaba o restringe los derechos morales del autor.

---

## INTRODUCCIÓN

Durante el año 1989 la Organización Mundial de la Salud realizó un trabajo de investigación denominado proyecto Mónica, el mismo suscitó interés debido a los resultados obtenidos que demostraron que las tasas de mortalidad por enfermedades cardiovasculares en Francia eran menores que en otros países industrializados como por ejemplo el Reino Unido y los Estados Unidos y que esa reducción significativa en las mismas estaba relacionada con el consumo de vino en esos países. Este trabajo de investigación fue realizado en la ciudad de Burdeos (Francia) en el cual se seleccionaban individuos que tenían el hábito de consumir una dieta rica en grasas y consecuentemente presentaban un riesgo elevado de padecer enfermedades cardiovasculares entre otras. También fueron considerados otros factores como el hábito de fumar y la presión arterial, comprobándose que a pesar de practicar hábitos alimentares perjudiciales la población exhibía un bajo índice de enfermedades cardiovasculares, de colesterol sanguíneo así como una baja frecuencia de ataques cardíacos, esta particular situación fue denominada como “paradoja francesa”. La explicación a los resultados obtenidos fue fundamentada en el tipo de dieta basada en frutas, verdura e vino, alimentos particularmente ricos en compuestos fenólicos (Criqui y Riegel, 1994; Renaud y Ruf, 1994).

En el mismo sentido, otros autores demostraron que los consumidores moderados de vino tinto, cuando comparados con los abstemios presentan menor riesgo de padecer tanto la enfermedad de Alzheimer, como demencia senil. De acuerdo con otros autores la reducción del riesgo en los consumidores de vino de contraer Alzheimer es de aproximadamente 25% y menor del 20% de padecer demencia senil (Orgogozo et al., 1997).

En Brasil se considera que las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte (32%), se calculan aproximadamente 820 casos por día y aproximadamente 300 mil muertes por año, es decir por cada cien mil habitantes ocurren en torno de 160 muertes, éste índice cuando comparado con otros países como el Japón donde se registran 42 muertes por cada cien mil habitantes, el índice brasilero es extremadamente elevado. De acuerdo con los datos divulgados por la Sociedad Brasileira de Cardiología (FUNCOR) aproximadamente 42% de los individuos adultos brasileiros presentan un índice elevado de

colesterol y el 15% son hipertensos. No obstante, existe una ciudad denominada Veranópolis, la misma está situada en el estado de Rio Grande do Sul, la cual se destaca por presentar el mayor índice de expectativa de vida del país y el tercero en el mundo. Los trabajos de investigación realizados en ésta ciudad también relacionaron el elevado índice de vida con el consumo moderado de vino tinto así como de alimentos producidos en la región.

Del mismo modo, los estudios epidemiológicos realizados en poblaciones orientales, demostraron que existe una relación entre la disminución en la incidencia de cáncer de mama, el consumo elevado de soja, así como de alimentos derivados de la misma los cuales son particularmente ricos en isoflavonas. De acuerdo con los estudios se calcula que la población japonesa ingiere una cantidad diaria aproximada de 30 a 40 mg/día de isoflavonas. Siendo el consumo en los países occidentales inferior debido al menor consumo de soja y de productos derivados de la misma (Kimira et al., 1998).

Considerando que la mayor parte de esos estudios fueron realizados teniendo como base una determinada práctica dietaria (rica en alimentos funcionales), y no en los compuestos individuales presentes en éstos alimentos, se considera necesario llevar a cabo rigurosos estudios de caracterización química para determinar los compuestos individuales y las cantidades, que están presentes en éstos alimentos con propiedades beneficiosas. Utilizando para esto métodos correctamente estandarizados, intentando establecer la eficiencia de absorción en el tracto gastrointestinal, su biodisponibilidad y sus mecanismos de acción para posteriormente realizar recomendaciones para el consumo humano.

Hasta el momento las evidencias científicas son insuficientes y la mayor parte de la información proviene, con excepción de los estudios epidemiológicos, de estudios experimentales realizados en condiciones *in vitro*, además poco se conoce sobre su metabolismo, distribución en tejidos específicos, así como de la interacción con metabolitos de relevancia biológica como por ejemplo la molécula de ADN, los lípidos, las proteínas, bien como las lipoproteínas (plasmáticas o celulares) son objetivos poco explorados que requieren de mayores estudios para así comprender el efecto biológico ejercido.

En ésta revisión se resumen los datos relacionados con los efectos antioxidantes de las frutas rojas particularmente ricas en antocianos, su metabolismo,

biodisponibilidad y distribución tecidual. La propuesta radica en comparar de forma crítica la significancia biológica de los resultados obtenidos en condiciones *in vitro* en relación a los observados *in vivo*, particularmente, nos centraremos en la interacción con la molécula de ADN y con los lípidos, como ejemplos ilustrativos de las complejas interacciones entre las moléculas alimenticias y la respuesta de la célula/tejido.

### Metabolitos secundarios

Las plantas producen una serie de compuestos orgánicos que no participan de forma directa en el desarrollo y crecimiento de las mismas. Esas sustancias fueron tradicionalmente denominadas como metabolitos secundarios. De acuerdo con la nomenclatura adoptada por la British Nutrition Foundation, los metabolitos secundarios pueden ser divididos en 4 grupos mayoritarios: los compuestos polifenólicos e fenólicos los cuales corresponden aproximadamente a 8000 compuestos, los terpenoides éste grupo comprende cerca de 25000 compuestos, los alcaloides alrededor de 12000 (Goldberg, 2003).

Los polifenoles, se caracterizan por presentar un anillo aromático y un anillo benceno con uno o más grupos hidroxilados incluyendo derivados funcionales, como por ejemplo ésteres, metilésteres, glucósidos, etc. Entre los mismos, se pueden distinguir dos grandes grupos los no flavonoides (ácidos fenólicos, estilbenos, taninos hidrolizables) y los flavonoides (flavonas, Isoflavonas, flavonoles, flavanoles, antocianos, flavanonas, taninos condensados) (Manach et al., 2005).

Los polifenoles en general son capaces de eliminar  $O_2$ ,  $O_2^-$ ,  $OH\cdot$ ,  $NO\cdot$  y radicales libres alquilo y peroxilo, a través de su capacidad de donar electrones, generando un radical fenoxilo estable. Los flavonoides que poseen un grupo *O*-dihidroxifenilo como anillo B y un anillo C saturado, como las catequinas y algunas procianidinas, poseen el lugar de contacto con los radicales libres en el anillo B, y la sustitución del anillo A solamente presenta una influencia limitada en los potenciales de reducción del radical semiquinona formado, que se muestra relativamente estable. Las galocatequinas, con un anillo B 3', 4', 5'-trihidroxifenilo, eliminan radicales libres de una forma más eficaz que las catequinas. También, la galoilación junto con el grupo 3, 4, 5-trihidroxifenilo en la molécula, favorece la capacidad de eliminación de radicales (Rice-Evans et al., 1997).

Esa propiedad antioxidante es de interés tanto tecnológico como nutricional debido a que estos compuestos son antioxidantes naturales presentes en los alimentos de origen vegetal, por tanto la elaboración de alimentos con una elevada concentración de compuestos fenólicos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes y de esa forma se obtendrían alimentos más saludables, que inclusive podrían ser considerados como alimentos funcionales (Martínez-Valverde, 2000). Desde el punto de vista nutricional, este poder antioxidante se relaciona con el papel preventivo en diversas enfermedades crónicas no transmisibles como por ejemplo, las enfermedades cardiovasculares, cáncer entre otras patologías, así como en el proceso normal y patológico de envejecimiento, por ese motivo está siendo intensamente estudiado mediante ensayos tanto *in vivo* como *in vitro* (Li et al., 2009; Katsube et al., 2003; Dai et al., 2009). Además a diferencia de otros antioxidantes presentes en la dieta como por ejemplo, el ácido ascórbico y el  $\alpha$ -tocopherol que actúan en medio acuoso y/o en la membrana fosfolipídica los polifenoles en cambio, son capaces de actuar en ambas fases y a pesar de la reconocida capacidad antioxidante *in vitro* de estos compuestos su eficacia *in vivo* debe ser más estudiada debido a que existen pocos datos con relación a su biodisponibilidad.

Los mecanismos de la absorción gastrointestinal de los compuestos fenólicos son desconocidos. Estos compuestos se caracterizan por ser hidrofílicos y por ese motivo no podrían penetrar la barrera intestinal mediante difusión pasiva. Hasta el momento, el único transportador activo de membrana descrito, que podría estar involucrado en la absorción de éstos metabolitos, es un mecanismo de transporte sodio-dependiente vinculado con la absorción de ácido ferúlico y cinámico en el intestino de roedores (Ader et al., 1996).

Los flavonoides en general, con excepción de los flavanoles se encuentran glicosilados o glucosilados en los alimentos, por ese motivo no pueden ser clivados por las enzimas digestivas humanas. Sin embargo estudios recientes demostraron aproximadamente, un 50% de absorción para determinados flavonoides (Passamonti et al., 2003, 2005; Matuschek et al., 2006). En un estudio realizado con seres humanos a los cuales se les administró glicosidos de quercetina, fue observado que la absorción ocurre aproximadamente 0,5–0,7 h después de producirse la ingestión de quercetina 4–glucósido

y 6–9 h después de la ingestión de rutina (quercetina–3– $\beta$ –rutinosido). Demostrándose a partir de éstos resultados, que la absorción de los glucósidos de quercetina ocurre en el intestino delgado, siendo la eficiencia de absorción superior que la eficiencia de absorción de sus agliconas. Por otro lado, los polifenoles que poseen una unidad ramnosa antes de ser absorbidos, son hidrolizados en el colon por las ramnosidasas presentes en la microflora intestinal (Hollman y Katan, 1999; Morand et al., 2000; Crespy et al., 2002; Mullen et al., 2002).

En este mismo sentido, la detección en la sangre portal y mesentérica de metabolitos glucuronidados después de realizar una perfusión con polifenoles en el intestino delgado de ratas comprueba que la glucuronidación de estos compuestos ocurre en primer lugar en los enterocitos antes de que sean más conjugados en el hígado (Sfakianos et al., 1997; Spencer et al., 2001). Probablemente, éste mismo proceso ocurre en seres humanos, debido a que se ha comprobado en condiciones *in vitro*, que la glucuronidación de quercetina y luteolina en microsomas del intestino es más elevada que la glucuronidación existente en microsomas del hígado humano (Boersma et al., 2002).

La absorción y distribución de estos compuestos también fue analizada utilizando métodos cromatográficos, en diversos tejidos de roedores como cerebro, células endoteliales, corazón, riñón, bazo, páncreas, próstata, útero, ovario, glándula mamaria, testículos, vejiga, hueso y piel (Youdim et al., 2003; Maubach et al., 2003). En esos estudios fueron determinadas concentraciones que se extienden entre 30 a 3000 ng aglicona eq/g de tejido dependiendo de la dosis administrada y del tejido estudiado (Coldham y Sauer, 2000). En éste estudio fue también demostrado que después de la administración de altas concentraciones de quercetina (aglicona), éste compuesto así como sus metabolitos se distribuyen en diversos tejidos, alcanzando una concentración de nanomoles por gramo de tejido, siendo que la concentración más alta fue detectada en pulmones y la más baja en cerebro y bazo de ratas y de cerdos (de Boer et al., 2005).

En seres humanos la cantidad absorbida es muy baja, siendo el ácido gálico y las isoflavonas los compuestos que mejor se absorben (0,22–1,8  $\mu\text{mol/L}$  y 0,5–1,65  $\mu\text{mol/L}$  respectivamente), seguidos por flavanonas y por quercetin glicosido. Entre los fitoquímicos menos absorbidos se encuentran las proantocianidinas y los antocianos, las

concentraciones detectadas oscilan entre 10–97 nmol/L dependiendo de la dosis administrada (Shahrzad et al., 2000; Goldberg et al., 2003; Graefe et al., 2001; Zubik y Meydani, 2003; Setchell et al., 2003; Manach et al., 2005).

No obstante, experimentos realizados en condiciones *in vitro* demuestran un significativo poder antioxidante en concentraciones que oscilan entre 0,1 a 100  $\mu\text{mol/L}$  (Ludwig et al., 2004). De acuerdo con datos de la literatura científica, los niveles fisiológicos se encuentran aproximadamente en 1  $\mu\text{mol/L}$ ; por ese motivo se sugiere que no todos los polifenoles ingeridos presentan poder antioxidante. Inclusive ciertos compuestos testados no poseen relevancia biológica *in vivo* y además, durante el proceso de absorción y metabolización gastrointestinal pueden ocurrir modificaciones químicas, generalmente no consideradas debido a que la mayoría de los estudios experimentales realizados fueron hechos en condiciones *in vitro* (por ejemplo cultivo de células) y los compuestos de interés fueron simplemente adicionados a los mismos, obviamente esas investigaciones no representan el metabolismo real de los fitoquímicos en condiciones *in vivo*, además excluyen las posibles interacciones con otras moléculas, así como las actividades sinérgicas y aditivas entre los componentes presentes en el extracto y/o alimento.

En ese mismo sentido, los efectos de la matriz de los alimentos sobre la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos es un hecho que tampoco se ha estudiado en detalle, podrían darse interacciones entre éstos compuestos y otros componentes presentes en los alimentos, como proteínas y polisacáridos, afectando de ésta forma el proceso de absorción de los mismos. Igualmente factores como el pH gástrico e intestinal, fermentaciones intestinales y la excreción biliar, podrían también afectar la absorción de los polifenoles (Manach et al., 2004).

Consecuentemente, estos diseños experimentales proporcionan información limitada y por ese motivo debe existir cautela antes de realizar una extrapolación directa de los resultados obtenidos en condiciones *in vitro* a *in vivo*. Porque los efectos moleculares de los polifenoles observados en condiciones *in vitro* pueden no ser relevantes *in vivo*, como sugerido por varios autores (Manach et al., 2005).

## Antocianos

En la actualidad, este grupo de compuestos fenólicos presentan un gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. Asimismo, varias de las propiedades beneficiosas descritas en las frutas rojas, están vinculadas con la presencia y el contenido de antocianos (Ramírez et al., 2005; Dai et al., 2009).

Los antocianos, son pigmentos flavonólicos, que presentan una estructura química adecuada para actuar como agentes antioxidantes, donar hidrógenos o electrones a los radicales libres, así como capturarlos y desplazados en su estructura aromática (Heim et al., 2002). La capacidad antioxidante de los mismos, se relaciona con la presencia de grupos hidroxilos en las posiciones 3' y 4' del anillo B, los cuales conceden estabilidad al radical formado. Por otro lado los grupos hidroxilos libres en las posición 3 del anillo C y en la posición 5 del anillo A, en conjunto con el grupo carbonilo en la posición 4 actúan como donadores de electrones (Tsuda et al., 1994; Espin et al., 2000; Prior y Wu, 2006.). Los antocianos, también conocidos como antocianinas y sus agliconas como antocianidinas, son los principales responsables del color característico de las frutas rojas y vinos tintos. En la Tabla 1 se indican los diferentes nombres que reciben estos compuestos según sean las sustituciones R1 y R2 (Tsuda et al., 1994).

**Tabla 1.** Nomenclatura de los antocianos.

R1	R2	Compuesto
OH	H	Cianidina
OH	OH	Delfinidina
OH	OCH3	Petunidina
OCH3	H	Peonidina
OCH3	OCH3	Malvidina

Las propiedades beneficiosas de los antocianos se han puesto de manifiesto en diferentes estudios, *in vivo* como *in vitro* realizados tanto en animales de experimentación como en seres humanos. Si bien no se conocen los mecanismos de absorción gastrointestinal de los compuestos fenólicos, se considera que los antocianos constituyen una excepción a la regla, debido a que se han encontrado glicósidos intactos en el plasma, autores sugieren que este hecho podría estar relacionado con la

inestabilidad de estos compuestos cuando se encuentran como agliconas o a la existencia de un mecanismo particular de absorción e metabolismo para estos compuestos (Passamonti et al., 2005; Joseph et al., 2005).

En ese sentido Passamonti et al. (2003), proponen un sistema de transporte para los antocianos por medio de translocasas a nivel gástrico, basándose en el hecho de que estos compuestos presentan una importante afinidad por el sistema previamente mencionado. Otros autores postulan que los antocianos podrían ser convertidos en glucurónidos por la acción de una de las enzimas UDP glucosa deshidrogenada (Wu et al., 2005). Similarmente Felgines et al. (2002) comprobaron que después de 8 días de administración de extracto de *blackberry*, los antocianos pueden ser detectados de forma intacta o bien metilada, en la orina de estos animales demostrando de esa forma que su viabilidad es muy baja comparada con otros flavonoides (Ohnishi et al., 2006).

Otros investigadores analizaron la distribución de estos compuestos en diversos tejidos, confirmando la presencia de antocianos glicosilados como la cianidina, la peonidina y la delfinidina, y de sus agliconas, glucuronidos y derivados metilados en diversos tejidos como estomago, intestino delgado, hígado, riñón, ojos y cerebro. Asimismo se ha comprobado que en estos 2 últimos tejidos (ojos y cerebro) estos compuestos pueden ser detectados después de media hora de administración siendo que la cantidad total determinada oscila entre 100 a 200 ng/g (Passamonti et al., 2003, 2005; Manach et al., 2005; Matuschek et al., 2006).

Del mismo modo, evidencias recientes indican que los antocianos son absorbidas y metabolizadas en seres humanos y que sus metabolitos pueden ser detectados en la orina 24 h después de la administración y que los mismos conservan su estructura básica. Resultados farmacocinéticos demuestran que la concentración de los glucósidos y sus derivados glucuronidos pueden ser detectados en sangre entre las 0-5 h después de la ingesta, y que dentro de ese periodo, se observa un aumento en el grado de metilación. Por ese motivo los autores sugieren que la bioactividad de los antocianos está probablemente condicionada a un determinado periodo de tiempo el cual estaría relacionado con su transformación metabólica (Mazza, 2002; Prior y Wu, 2006)

Del mismo modo se ha investigado la viabilidad de los antocianos utilizando diferentes dosis, fuentes (tipo de berry) y matrices (jugo, extracto, capsulas). Confirmando que los mismos son rápidamente absorbidos, y pueden ser detectados 1,5 h después de la administración. Los autores sugieren que el proceso de absorción ocurre probablemente en el estomago y/o en el intestino delgado (Manach et al., 2005; Prior y Wu, 2006). Sin embargo, las concentraciones plasmáticas detectadas varían significativamente y en general se detectan niveles muy bajos menores a 1  $\mu$ M. Los autores también sugieren, que la actividad de la microflora del colon y la baja estabilidad de los antocianos frente al pH del intestino, serian en parte responsables por la conversión de estos compuestos en moléculas menores, y que los mismos son eliminados a través de la urina entre las 4-6 h después de la administración. Considerando que la proporción de los antocianos excretados es menor al 0,1% de la suma total ingerida, gran parte del metabolismo de estos compuestos no esta completamente dilucidado. (Prior y Wu, 2006).

### Efectos fisiológicos asociados a los antocianos

Los efectos fisiológicos de los antocianos se deben a su estructura química, siendo sus principales propiedades la capacidad de eliminar radicales libres, efectos sobre la fluidez de la membrana plasmática, efecto antiinflamatorio y antinociceptivo, efecto cardioprotector y neuroprotector efecto antimutagénico, efecto anticarcinogénico, efecto antivírico y antibacteriano (Espin et al., 2000; Cheplick et al., 2007).

Dentro de estas propiedades la capacidad antioxidante es una de las más analizadas. Diferentes estudios ponen de manifiesto que el poder antioxidante de los antocianos y de sus agliconas es equivalente a las vitaminas C y E, y que la capacidad de capturar radicales libres está directamente relacionada con el efecto anticarcinogénico de estos compuestos (Bagchi et al. 1998). Resultados similares obtuvieron Narayan et al. (1999), al comparar la capacidad antioxidante de los antocianos con  $\alpha$  tocoferol, hidroxianisol butirato e hidroxitolueno butilado. Además parece ser que existe una correlación lineal entre la cantidad de antocianos totales y la capacidad antioxidante en diversas frutas como: *blackberries*, *red raspberries*, *black raspberries* y *strawberries* (Henoinen et al., 1998; Kakonen et al., 1998, Sellappan et al., 2002).

En nuestro laboratorio se han realizado varios estudios sobre la capacidad antioxidante de extractos provenientes de diferentes cultivares de *Vaccinium ashei* y de *Rubus* sp., utilizando la técnica de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), demostrándose que el extracto total, las fracciones aisladas (flavonoidica, o ácidos fenólicos) como también antocianos aislados exhiben significativo poder antioxidante cuando comparados al TROLOX (análogo de la vitamina E). Se ha comprobado también que el extracto de *Rubus* presenta efecto antiinflamatorio en ratas, se cree que ésta propiedad se debe a la capacidad de los antocianos para disminuir la liberación de citocinas. Además, los antocianos pueden efectuar su actividad antiinflamatoria debido principalmente a su capacidad para inhibir la liberación del ácido araquidónico, así como las enzimas ciclooxigenasa y lipooxigenasa, o bien debido a la fosforilación de proteínas específicas causantes de la activación de las mismas (Ramírez et al., 2009).

Similarmente, Seeram y Nair (2002), también comprobaron que en condiciones *in vitro*, el poder antioxidante de los antocianos individuales esta directamente relacionado con la estructura química de los mismos, y que la eficacia aumenta de forma proporcional al número de grupos OH en el anillo B, y en el caso de la cianidina en particular, la presencia de unidades glicosiladas en la posición 3 del anillo C decrece la actividad antioxidante, resultados similares fueron obtenidos por Tsuda et al. (1994).

Matsumoto et al. (2004) analizaron los efectos de la administración de extracto de chokeberry en un modelo animal de lesiones gástricas hemorrágicas inducidas con etanol, comprobando que el extracto exhibe propiedades terapéuticas y/o preventivas gastrointestinales. Del mismo modo se ha evaluado la capacidad antioxidante de éstas frutas rojas sobre la oxidación de las LDL, demostrándose que el extracto de chokeberry y uvas disminuye los niveles séricos de colesterol total y triglicéridos, al mismo tiempo que provoca un aumento de los niveles de colesterol ligado a HDL y una disminución de los niveles de colesterol ligado a LDL y VLDL (Valcheva-Kuzmanova et al., 2007). Adicionalmente, Cooper et al. (2004) han demostrado en seres humanos, que el consumo moderado de vino tinto durante 10 días (200 mL), reduce los niveles de colesterol/LDL.

Por otra parte se ha comprobado que extractos provenientes de diferentes cultivares de *Rubus*,

pueden inhibir la actividad de las enzimas  $\alpha$ -amilasa,  $\alpha$ -glucosidasa y de la enzima convertidora de angiotensina-1 (ACE) *in vitro*, las cuales están asociadas con la diabetes del tipo II e hipertensión respectivamente (Cheplick et al., 2007). Asimismo Herrera-Arellano et al. (2007), comprobaron que el extracto de *Hibiscus sabdariffa*, rico en antocianos, disminuye la presión sanguínea y reduce la actividad de ACE en pacientes hipertensos.

Las propiedades antimutagénicas y anticarcinogénicas de los antocianos se han puesto de manifiesto en numerosos estudios tanto *in vitro* como *in vivo* (Duthie et al., 2007). Según datos bibliográficos, durante el proceso de desarrollo del cáncer se producen una secuencia de eventos denominados como iniciación (inducción de mutaciones en el ADN), promoción (expansión tumorogénica) y progresión (conversión de un tumor benigno/maligno a cancerígeno). En éste sentido, debe considerarse el hecho de que una vez iniciado este proceso el mismo es prácticamente irreversible, por ese motivo es importante prevenir el desarrollo del cáncer, e identificar los compuestos que puedan inhibir la propagación del tumor cancerígeno. De acuerdo con datos bibliográficos, los puntos mas importantes que deben ser controlados son la producción de hidróperóxido, el incremento de la síntesis de ADN y la inducción de la actividad de la enzima ornitina descarboxilasa (Li et al., 2009; Katsube et al., 2003).

Para protagonizar un efecto real *in vivo*, los compuestos de interés deben ser absorbidos de la dieta y dirigidos hacia los órganos diana. En un estudio realizado *in vivo*, por Ramirez-Tortosa et al. (2001) con un extracto rico en antocianos (delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, 1 g/kg) fue comprobado que cuando combinados éstos compuestos, se observa una mejora significativa de la capacidad antioxidante plasmática en los animales tratados y que además existe una disminución en los niveles de hidróperóxidos y 8-oxo-deoxiguanosina en el hígado de esos animales, ambas sustancias son marcadores específicos de la dieta deficiente en vitamina E, e indicadores de peroxidación lipídica y de daño endógeno en la molécula de ADN.

Similarmenete Duthie et al. (2004), investigaron las consecuencias de una dieta deficiente en vitamina E, juntamente con el efecto citoprotector del antociano cianidina (100 mg/kg) sobre la molécula de ADN y los lípidos celulares, utilizando un modelo *in vitro* de cultivo de células y otro *in vivo* en ratas previamente

tratadas con los extractos. Observaron que, los niveles plasmáticos y hepáticos de  $\alpha$ -tocoferol en ratas, disminuyen significativamente después de 12 semanas de tratamiento; la peroxidación lipídica se incrementa significativamente en plasma, hígado y células sanguíneas. Adicionalmente los niveles de especies reactivas de oxígeno y de piruvato quinasa están aumentados en fagocitos y plasma. Por otro lado, los bajos niveles de vitamina E no alteran la estabilidad del ADN en linfocitos de ratas, hígado o colon. Similarmenete el tratamiento con cianidina-3-glicosido no altera la peroxidación lipídica o el ADN en ratas. Sin embargo produce un efecto quimioprotectivo en la molécula de ADN en colonocitos humanos como resultado del tratamiento con antocianos. Si bien se conoce que la vitamina E altera los niveles de oxidación lipídica *in vivo*, su papel en el mantenimiento de la estabilidad del ADN todavía no fue completamente dilucidado. Asimismo fue observado que el tratamiento con cianidina-3-glicosido protege a la molécula de ADN del daño oxidativo *in vitro*, en concentraciones nutricionalmente relevantes no altera el daño oxidativo *in vivo*. Los autores sugieren que esta discrepancia entre los resultados observados en condiciones *in vitro/in vivo* esté relacionado con la baja biodisponibilidad y al metabolismo de los antocianos.

Otros autores comprobaron, que es posible reducir hasta 50% la oxidación de bases de la molécula de ADN después del tratamiento con *Aronia melanocarpa* ELLIOT (black chokeberry), en colonocitos humanos extraídos por biopsia. Estos autores determinaron, el daño endógeno bien como el daño inducido con peróxido de hidrógeno (Rechkemmer y Pool-Zobel, 1998). Asimismo, Pool-Zobel et al. (1999) demostraron que compuestos aislados y purificados a partir de *Aronia melanocarpa* ELLIOT reducían el daño de ADN inducido por peróxido de hidrogeno en una línea de células tumorales humana, no obstante el tratamiento no altera el daño endógeno de la molécula de ADN. También observaron que los compuestos purificados tanto las agliconas como los glicosidos presentan el mismo poder antioxidante, estos resultados sugieren que los antocianos podrían ejercer efectos protectores en tejidos específicos como por ejemplo el colon humano.

Del mismo modo, Lazzé et al. (2003) comprobaron que el pretratamiento con antocianos y sus derivados: delfinidina y cianidina, protegen a la molécula de ADN del daño inducido con *tert*-butil-

hidroperóxido en músculo liso y en una línea celular de hepatoma de ratos. También observaron que éstos compuestos inhiben la citotoxicidad, la peroxidación lipídica y la formación de aductos en la molécula de ADN, por el contrario, no modifican el estado redox de la célula y tampoco la oxidación de bases de la molécula de ADN. No obstante, la presencia de azúcar en la estructura de la molécula reduce el efecto protector principalmente en las células de hepatoma de ratos. Estos resultados ponen de manifiesto que existe una relación estructura/función de los antocianos y de sus derivados, y que inclusive la sensibilidad específica de cada tejido frente al estrés oxidativo, la distribución y localización intracelular de estos compuestos determinan el efecto protector. Diferentes estudios de intervención nutricional ponen de manifiesto que extractos provenientes de frutas rojas en general así como sus antocianos aislados e purificados disminuyen o retardan los efectos deletéreos relacionados con la edad e inclusive previenen enfermedades neurológicas y alteraciones cognitivas. Del mismo modo fue demostrado que los antocianos presentes en esos extractos atraviesan la barrera hematoencefálica, y ejercen efectos en diversas estructuras cerebrales como córtex, cerebelo e estriado (Passamonti et al., 2003, 2005; Youdim et al., 2003, 2004; Andrés-Lacueva et al., 2005).

En nuestro laboratorio se ha estudiado el efecto de la suplementación por 30 días con extracto de blueberry (3.2 mg/kg/día de antocianos) en cerebro de ratones, demostrándose que el extracto total ejerce un efecto protector del daño endógeno de la molécula de ADN en hipocampo y cortex cerebral de estos animales, por el contrario no presenta efectos protectivos frente al daño inducido con peróxido de hidrogeno en las mismas estructuras cerebrales. Para algunos autores estos resultados sugieren que los antocianos presentes en el extracto, forman un complejo con la cadena de ADN estabilizando de esta forma a la molécula frente al daño oxidativo (Ramírez et al., 2005; Barros et al., 2006).

Resultados similares fueron encontrados en ratas idosas, después de la suplementación por un período de 6 meses con el mismo extracto no se observaron efectos protectores en la integridad de la molécula de ADN, no obstante después de la inducción de daño con peróxido de hidrógeno se comprobó que el extracto protege de forma significativa al ADN en el córtex cerebral de los ratos tratados; por lo que se piensa que esos resultados estarían relacionados con las modificaciones en las propiedades físicas de la

membrana plasmática relacionadas con el proceso de envejecimiento (por ej. rigidez), este hecho puede condicionar la distribución intracelular de los componentes del extracto, así como los efectos biológicos de éste (Ramírez et al., 2008).

Noda et al. (2002) comprobaron que las antocianinas aisladas y purificadas a partir de *Punica granatum* L.: delfinidina, cianidina y pelargonidina, inhiben en ese orden la peroxidación lipídica inducida por peróxido de hidrógeno en cerebro de ratas en condiciones *in vitro*. Asimismo, Narayan et al. (1999), demostraron que los antocianos aislados disminuyen significativamente la autooxidación y la peroxidación lipídica de forma no competitiva, en un modelo *in vitro* de peroxidación lipídica enzimática y no enzimática. Similarmente, resultados provenientes de nuestro laboratorio demostraron que el extracto de *Rubus* promueve lipoperoxidación en hipocampo, estriado y córtex cerebral de ratas después de 30 días de suplementación (3,2 mg/kg/día de antocianos). No obstante, fueron observados efectos protectivos después de la suplementación por 30 días con cianidina aislada a partir de la misma fruta (Ramírez et al., 2008). También se ha observado que el extracto total de *Rubus* induce un aumento significativo de glutamato en ambas estructuras cerebrales estudiadas (cortex, hipocampo), en cambio la suplementación con cianidina 3 glicosido produce una reducción significativa en las cantidades totales de ese neurotransmisor (Ramírez et al., 2009). De acuerdo con la literatura un aumento en las concentraciones de glutamato está asociado a la formación de radicales libres. Como consecuencia de estos antecedentes, en nuestro laboratorio decidimos estudiar el efecto antinociceptivo del extracto de mirtilo. Comprobando que después de 21 días de suplementación oral, el extracto ejerce un efecto antinociceptivo de forma dosis dependiente por mecanismos todavía desconocidos (Ramírez et al., 2009).

No obstante, intervenciones dietéticas realizadas en seres humanos muestran resultados controvertidos, se ha comprobado en individuos voluntarios que el tratamiento con *aronia*, *blueberry* y *boysenberry*, ejerce un efecto protector de la integridad del ADN (efecto antígenotóxico), en células mononucleares (Rechkemmer y Pool-Zobel 1998). Del mismo modo, se ha observado que el consumo por 4 semanas de jugo proveniente de una mezcla de diferentes tipos de berries produce una disminución del daño oxidativo

celular y un aumento en los niveles de glutatión reducida (Weisel et al., 2006). Contrariamente, en otro estudio donde los voluntarios fueron divididos en dos grupos: el primer grupo recibió jugo de *blackcurrant* y el segundo grupo jugo de antocianos purificados a partir de la misma fruta durante un periodo de 3 semanas, no se observaron diferencias significativas en marcadores de daño del ADN entre los grupos tratados y controles (Moller et al., 2004). Senthilmohan et al. (2003) utilizaron el extracto comercial denominado Enzogenol®, en un estudio donde individuos adultos de entre 55 a 75 años de edad, recibieron 240 mg de Enzogenol® y 120 mg de vitamina C durante un periodo de 6 o 12 semanas. Los autores demostraron que después de 12 semanas de tratamiento se observó una reducción en el daño endógeno de ADN en células sanguíneas como en la oxidación de proteínas en suero.

Por otra parte, se ha comprobado que si bien la capacidad antioxidante plasmática es un indicador adecuado del estatus antioxidante, los marcadores biológicos de estrés como de daño oxidativo se encuentran en niveles muy bajos en los individuos voluntarios (Mazza et al., 2002). Por ese motivo, en estudios subsecuentes se utilizaron voluntarios que habitualmente viven en condiciones de estrés, por ejemplo, fumadores, obreros que utilizan la fuerza muscular para realizar sus tareas o también individuos que pertenecen grupos de riesgo previamente identificados, dentro de este contexto fue observado que la ingesta de cápsulas de *blackcurrant* produce un incremento del flujo sanguíneo periférico y que también alivia la fatiga muscular característica de las personas que realizan trabajos físicos repetitivos (Matsumoto et al., 2005). Similarmente fue comprobado que el consumo de jugo de *chokeberry* estimula las defensas antioxidantes endógenas y limita el daño oxidativo después de ejercicios físicos regulares (Pilaczynska-Szescniak et al., 2005). Asimismo, en fumadores crónicos la ingesta prolongada de *blueberry*, reduce los niveles de lípidos hidroxiperóxidos (McAnulty et al., 2005). En pacientes que padecieron ataque isquémico y que bebieron jugo de *chokeberry* en combinación con estatina, durante 6 semanas, se observó una reducción en los niveles séricos de isoprostanos y de LDL oxidada y un incremento de adiponectin y reducción de la presión sanguínea y consecuentemente una reducción significativa de la inflamación (Naruszewicz et al., 2007).

Por otro lado, varios autores describen que las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos son reducidas *in vivo* por causa de su afinidad por las proteínas (Serafín et al., 2009). Estudios recientes evaluaron la disponibilidad de los polifenoles en plasma de voluntarios humanos después de la ingestión de jugo de *blueberry* sin leche y asociado con leche, las muestras de plasma fueron colectadas 1, 2, y 5 h después de la ingesta. Los individuos que consumieron únicamente *blueberry* presentan un aumento en las concentraciones de los marcadores plasmáticos ácido ferúlico y ácido cafeico. En contraste, la ingesta de *blueberry* con leche produce una disminución de éstos compuestos, es decir no se detectó un aumento en la capacidad antioxidante en el plasma. Esos resultados sugieren que la ingestión de *blueberry* en asociación con leche perjudica las propiedades antioxidantes y reduce la absorción *in vivo* de los compuestos bioactivos presentes en esas frutas (Serafín et al., 2009).

## CONCLUSIÓN

Notablemente, numerosos trabajos científicos demostraron una asociación entre el consumo de frutas y verduras con el bajo riesgo de padecer ciertas enfermedades crónico-degenerativas, esa propiedad fue atribuida principalmente a la capacidad antioxidante de los componentes de esos alimentos. Si bien un amplio espectro de compuestos con propiedades antioxidantes están presentes en los alimentos de origen vegetal en general, es necesario considerar que la capacidad antioxidante puede ser perdida o reducida durante el proceso de absorción debido a la transformación metabólica que está comúnmente asociada con la conjugación de moléculas. Además las moléculas que presentan una estructura química compatible con la propiedad antioxidante en condiciones *in vitro* podrían *in vivo* ejercer otros efectos independientes de sus propiedades antioxidantes, por ejemplo alterar la actividad de ciertas enzimas, unirse a determinados receptores de membrana, o a receptores nucleares como ligando o imitadores.

Otro importante aspecto a considerar son los efectos ejercidos por compuestos aislados con relación a las matrices complejas que contienen una amplia gama de compuestos que interaccionan entre si. Deben ser realizadas más investigaciones para explorar el mecanismo de acción de esos compuestos aislados, y de esta forma utilizarlos como referencia para el estudio de matrices complejas.

Actualmente también se considera a la dieta como un factor clave para el mantenimiento de la estabilidad genómica, considerando que diversos micronutrientes son coenzimas de enzimas vinculadas con la síntesis y la reparación de la molécula de ADN, otro aspecto que necesita ser mejor dilucidado es la interacción de los compuestos fenólicos *in vivo* con metabolitos de relevancia biológica como la molécula de ADN, las proteínas y los lípidos. Esas interacciones, probablemente, desempeñan un importante papel en los efectos biológicos comprobados de esos compuestos. Con relación a este punto surge un nuevo paradigma, ¿cuál es la dosis adecuada de compuestos individuales o de extracto total que podrá ejercer un efecto biológico? ¿Durante cuánto tiempo deberá ser realizada la suplementación y cuál es el momento adecuado para iniciar ésta? En ese sentido también necesitan ser realizados estudios de toxicidad, principalmente para los trabajos en los cuales las suplementaciones son realizadas durante un periodo de tiempo prolongado.

## REFERENCIAS

- Ader P, Grenacher B, Langguth P, Scharrer E, Wolfram S. 1996. Cinnamate uptake by rat small intestine: transport kinetics and transepithelial transfer. *Exp Physiol* 81:943-955.
- Andrés-Lacueva C, Shukitt-Hale B, Galli RL, Jauregui O, Lamuela-Raventos RM, Joseph JA. 2005. Anthocyanins in aged blueberry-fed rats are found centrally and may enhance memory. *Nutrit Neurosci* 8:111-120.
- Bagchi D, Garg A, Krohn RL, Bagchi M, Bagchi BJ, Balmoori J. 1998. Protective effects of grape seed proanthocyanidins and selected antioxidants against TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation and DNA fragmentation, and peritoneal macrophage activation in mice. *Gen Pharmacol* 30:771-776.
- Barros DM, Amaral OB, Izquierdo I, Geracitano L, Bassols Raseira MC, Henriques AT, Ramirez MR. 2006. Behavioral and genoprotective effects of *Vaccinium berries* intake in mice. *Behav Brain Res* 84:229-234.
- Boersma MG, van der Woude H, Bogaards J, Boeren S, Vervoort J, Cnubben NH, van Iersel ML, van Bladeren PJ, Rietjens IM. 2002. Regioselectivity of phase II metabolism of luteolin and quercetin by UDP-glucuronosyl transferases. *Chem Res Toxicol* 15:662-670.
- Cheplick S, Kwon Y, Bhowmik P, Shetty K. 2007. Clonal variation in raspberry fruit phenolics and relevance for diabetes and hypertension management. *J Food Biochem* 31:656-679.
- Coldham NG, Sauer MJ. 2000. Pharmacokinetics of genistein in the rat: gender-related differences, potential mechanisms of biological action, and implications for human health. *Toxicol Appl Pharmacol* 164:206-215.
- Cooper KA, Chopra M, Thurnham DI. 2004. Wine polyphenols and promotion of cardiac health. *Nutr Res Rev* 17:111-129.
- Crespy V, Morand C, Besson C, Manach C, Demigne C, Remesy C. 2002. Quercetin, but not its glycosides, is absorbed from the rat stomach. *J Agr Food Chem* 50:618-621.
- Criqui MH, Ringel BL. 1994. Does diet or alcohol explain the French paradox? *Lancet* 344:1719-1723.
- Dai J, Gupte A, Gates L, Mumper RJ. 2009. A comprehensive study of anthocyanin-containing extracts from selected blackberry cultivars: Extraction methods, stability, anticancer properties and mechanisms *Food Chem Toxicol* 47:837-847.
- de Boer VC, Dihal AA, van der Woude H, Arts IC, Wolfram S, Alink GM, Rietjens IM, Keijer J, Hollman PC. 2005. Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. *J Nutr* 135:1718-1725.
- Duthie SJ, Gardner PT, Morrice PC, Wood SG, Pirie L, Bestwick CC, Milne L, Duthie GG. 2004. DNA stability and lipid peroxidation in vitamin E deficient rats *in vivo* and colon cells *in vitro*. *Eur J Nutr* 44:195-203.
- Duthie SJ. 2007. Berry phytochemicals, genomic stability and cancer: Evidence for chemoprotection at several stages in the carcinogenic process. *Mol Nutr Food Res* 51:665-674.
- Espin JC, Soler-Rivas C, Wichers HJ, Garcíaviguera C. 2000. Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. *J Agr Food Chem* 48:1588-1592.
- Felgines C, Texier O, Besson C, Fraisse D, Lamaison JL, Remesy C. 2002. Blackberry anthocyanins are slightly bioavailable in rats. *Nutr Metab* 132:1249-1253.
- Goldberg DM, Yan J, Soleas GJ. 2003. Absorption of three wine related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. *Clin Biochem* 36:79-87.
- Graefe EU, Wittig J, Mueller S, Riethling AK, Uehleke B, Drewelov B, Pforte H, Jacobasch G, Derendorf H, Veit M. 2001. Pharmacokinetics and bioavailability of quercetin glycosides in humans. *J Clin Pharmacol* 41:492-499.
- Goldberg G. 2003. Plants: diet and health. The report of a British nutrition foundation task force. Oxford, U.K.: Blackwell Publishing Ltd. 347 p.
- Goldberg DM, Yan J, Soleas GJ. 2003. Absorption of three wine related polyphenols in three different matrices by healthy subjects. *Clin Biochem* 36:79-87.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 13:572-584.

- Heinonen IM, Meyer AS, Frankel EN. 1998. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J Agr Food Chem* 46: 4107-4112.
- Herrera-Arellano A, Miranda-Sanchez J, Avila-Castro P, Herrera-Alvarez S, Jimenez-Ferrer JE, Zamilpa A, Roman-Ramos R, Ponce-Monter H, Tortoriello J. 2007. Clinical effects produced by a standardized herbal medicinal product of *Hibiscus sabdariffa* on patients with hypertension. A randomized, double-blind, lisinopril controlled clinical trial. *Planta Med* 73:6-12.
- Hollman PC, Bijlsman MN, van Gameren Y, Cnossen EP, de Vries JH, Katan MB. 1999. The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man. *Free Radical Res* 31:569-573.
- Joseph JA, Shukitt-Hale B, Casadesus G. 2005. Reversing the deleterious effects of aging on neuronal communication and behavior: beneficial properties of fruit polyphenolic compounds. *Am J Clin Nutr* 81:313-316.
- Kahkonen MP, Hopia AI, Heinonen M. 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. *J Agr Food Chem* 49:4076-4082.
- Katsube N, Keiko I, Tsushida T, Yamaki K, Kobori M. 2003. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *J Agr Food Chem* 51:68-75.
- Kimira M, Arai Y, Shimoi K, Watanabe S. 1998. Japanese intake of flavonoids and isoflavonoids from foods. *J Epidemiol* 8:168-175.
- Lazzé MC, Pizzala R, Savio M, Stivala LA, Prospero E, Bianchi L. 2003. Anthocyanins protect against DNA damage induced by *tert*-butyl-hydroperoxide in rat smooth muscle and hepatoma cells. *Mutat Res* 535:103-115.
- Li Y, Ambrosone CB, McCullough MJ, Ahn J, Stevens VL, Thun MJ, Hong CC. 2009. Oxidative stress related genotypes, fruit and vegetable consumption, and breast cancer risk. *Carcinogenesis* 30:777-784.
- Ludwig A, Lorenz M, Grimbo N, Steinle F, Meiners S, Bartsch C, Stangl K, Baumann G, Stangl V. 2004. The tea flavonoid epigallocatechin-3-gallate reduces cytokine-induced VCAM-1 expression and monocyte adhesion to endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 316:659-665.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jimenez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79:727-747.
- Manach E, Williamson G, Morand C, Seal A, Rémésy C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 81:230S-242S.
- Matsumoto H, Takenami E, Iwasaki-Kurashige K, Osada T, Katsumura T, Hamaoka T. 2005. Effects of blackcurrant anthocyanin intake on peripheral muscle circulation during typing work in humans. *Eur J Appl Physiol* 94:36-45.
- Matsumoto M, Hara H, Chiji H, Kasai T. 2004. Gastroprotective effect of red pigments in black chokeberry fruit (*Aronia melanocarpa* Elliot) on acute gastric hemorrhagic lesions in rats. *J Agr Food Chem* 52:2226-2229.
- Matuschek MC, Hendriks WH, McGhie TK, Reynolds GW. 2006. The jejunum is the main site of absorption for anthocyanins in mice. *J Nutr Biochem* 17:31-36.
- Maubach J, Bracke ME, Heyerick A, Depypere HT, Serreyn RF, Mareel MM, De Keukeleire D. 2003. Quantitation of soy-derived phytoestrogens in human breast tissue and biological fluids by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* 784:137-144.
- Mazza G, Kay CD, Cotrell T, Holub BJ. 2002. Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects. *J Agr Food Chem* 50:7731-7737.
- McAnulty SR, McAnulty LS, Morrow JD, Khardouni D, Shooter L, Monk J, Gross S, Brown Y. 2005. Effect of daily fruit ingestion on angiotensin converting enzyme activity, blood pressure, and oxidative stress in chronic smokers. *Free Radical Res* 39:1241-1248.
- Moller P, Loft S, Alftan G, Freese R. 2004. Oxidative DNA damage in circulating mononuclear blood cells after ingestion of blackcurrant juice or anthocyanin-rich drink. *Mutat Res* 551:119-126.
- Morand C, Manach C, Crespy V, Rémésy C. 2000. Quercetin 3-*O*-beta-glucoside is better absorbed than other quercetin forms and is not present in rat plasma. *Free Radical Res* 33:667-676.
- Mullen W, Graf BA, Caldwell ST, Hartley RC, Duthie GG, Edwards CA, Lean ME, Crozier A. 2002. Determination of flavonol metabolites in plasma and tissues of rats by HPLC-radiocounting and tandem mass spectrometry following oral ingestion of quercetin-4-glucoside. *J Agr Food Chem* 50:6902-6909.
- Narayan MS, Akhilender NK, Ravishankar GA, Srinivas L, Venkataraman LV. 1999. Antioxidant effect of anthocyanin on enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation. *Prostaglandins, Leukot Essent Fatty Acid* 60:1-4.
- Naruszewicz M, Laniewska I, Millo B, Dluzniewski M. 2007. Combination therapy of statin with flavonoids rich extract from chokeberry fruits enhanced reduction in cardiovascular risk markers in patients after myocardial infarction. *Atherosclerosis* 194:179-184.
- Noda Y, Kaneyuki T, Mori A, Packer L. 2002. Antioxidant activities of pomegranate fruit extract and its anthocyanidins: Delphinidin, cyanidin, and pelargonidin. *J Agr Food Chem* 50:166-171.

- Ohnishi RTH, Kasajima N, Kaneda M, Kariyama R, Kumon H, Hatano T, Yoshida T. 2006. Urinary excretion of anthocyanins in humans after cranberry juice ingestion. *Biosci Biotechnol Biochem* 70:1681-1687.
- Orgogozo JM, Dartigues JF, Lafont S, Letenneur L, Commenge D, Salamon R, Renaud S, Breteler MB. 1997. Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the bourdeux area. *Rev Neurol* 153:185-192.
- Passamonti AS, Vrhovsek U, Vanzo A, Mattivi F. 2003. The stomach as a site for anthocyanins absorption from food. *FEBS Lett* 544:210-213.
- Passamonti S, Vrhovsek U, Vanzo A, Mattivi F. 2005. Fast access of some grape pigments to the brain. *J Agr Food Chem* 53:7029-7034.
- Pilaczynska-Szczesniak L, Skarpanska-Steinborn A, Deskur E, Basta P, Horoszkiewicz-Hassan M. 2005. The influence of chokeberry juice supplementation on the reduction of oxidative stress resulting from an incremental rowing ergometer exercise. *Tnt J Sport Nutr Exerc Metab* 15:48-58.
- Pool-Zobel BL, Bub A, Schröder N, Rechkemmer G. 1999. Anthocyanins are potent antioxidants in model systems but do not reduce endogenous oxidative DNA damage in human colon cells. *Eur J Nutr* 38:227-234.
- Prior RL, Wu X. 2006. Anthocyanins: structural characteristics that result in unique metabolic patterns and biological activities. *Free Radical Res* 40:1014-1028.
- Ramírez MR, Izquierdo IA, Bassols-Raseira MC, Zuanazzi JA, Barros DM, Henriques AT. 2005. Effect of lyophilised *Vaccinium* berries on memory, anxiety and locomotion in adult rats. *Pharm Res* 52:457-462.
- Ramirez MR, Bassols Raseira MC, Barros DM, Henriques AT. 2008. Efeitos benéficos da suplementação com mirtilo no sistema nervoso central: comparação entre ratos adultos e ratos velhos. *Simpósio Nacional del Morango. 5º Encontro de Pequenas Frutas e frutas Nativas do Mercosul. Livro de memória do evento, 95.*
- Ramirez MR, Passos C, Henriques AT. 2009. Estudo preliminar do efeito da suplementação prolongada com extrato de *Rubus* sp e cianidina isolada na concentração de aminoácidos excitatórios e inibitórios no SNC em ratos. *Sociedade Brasileira de Química (SBQ) Fortaleza Brasil.*
- Ramirez MR, Guterres L, Dickel OE, de Castro MR, Henriques AT, de Souza MM, Barros DM. 2009. Preliminary studies on the antinociceptive activity of *Vaccinium Ashei* berry in experimental animal models. *J Med Food*. DOI would be 10.1089/jmf. 2009.0079.
- Ramirez-Tortosa C, Andersen OM, Gardner PT, Morrice PC, Wood SG, Duthie S J, Collins AR, Duthie GG. 2001. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. *Free Radical Biol Med* 31:1033-1037.
- Rechkemmer G, Pool-Zobel BL. 1998. Antigenotoxic and physiological properties of anthocyanins/anthocyanidins in intestinal epithelial cells. In: COST 916, Bioactive plant cell wall components in nutrition and health: Polyphenols in food (EUR 18169):131-136.
- Renaud S, Ruf JC. 1994. The French paradox: vegetables or wine. *Circulation* 90:3118-3119.
- Rice-Evans CA, Miller NJE, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 2:152-159.
- Seeram NP, Nair MG. 2002. Inhibition of lipid peroxidation and structure activity-related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. *J Agr Food Chem* 50:5308-5312.
- Sellappan S, Akoh C, Krewer G. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J Agr Food Chem* 50:2432-2438.
- Senthilmohan ST, Zhang J, Stanley RA. 2003. Effects of flavonoid extract Enzogenol® with vitamin C on protein oxidation and DNA damage in older human subjects. *Nutr Res* 23:1199-1210.
- Serafin M, Testa MF, Villaño D, Pecorari M, van Wieren K, Azzini E, Brambilla A, Maiani G. 2009. Antioxidant activity of blueberry fruit is impaired by association with milk. *Free Radical Biol Med* 46:769-774.
- Setchell KDR, Brown NM, Desai PB, Zimmer-Nechimias L, Wolfe B, Jakate AS, Creutzinger V, Heubi JE. 2003. Bioavailability disposition and dose-response effects of soy isoflavones when consumed by healthy women at physiologically typical dietary intakes. *J Nutr* 133:1027-1035.
- Shahrzad S, Aoyagi K, Winter A, Koyama A, Bitsch I. 2000. Pharmacokinetics of gallic acid and its relative bioavailability from tea in healthy humans. *J Nutr* 131:1207-1210.
- Shoji T, Masumoto S, Moriichi N, Akiyama H, Kanda T, Ohtake Y, Goda Y. 2006. Apple procyanidin oligomers absorption in rats after oral administration: analysis of procyanidins in plasma using the porter method and high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J Agr Food Chem* 54:884-892.
- Spencer JP, Schroeter H, Crossthwaithe AJ, Kuhnle G, Williams RJ, Rice-Evans C. 2001. Contrasting influences of glucuronidation and O-methylation of epicatechin on hydrogen peroxide-induced cell death in neurons and fibroblasts. *Free Radical Biol Med* 31:1139-1146.
- Tsuda T, Watanabe M, Ohshima K, Nori- Norinobu S, Choi SW, Kawakishi S, Osawa T. 1994. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-D glucoside and cyanidin. *J Agr Food Chem* 42:2407-2410.

- Valcheva-Kuzmanova S, Kuzmanov K, Mihova V, Krasnaliev I, Borisova P, Belcheva A. 2007. Antihyperlipidemic effect of *Aronia melanocarpa* fruit juice in rats fed a high-cholesterol diet. *Plant Food Hum Nutr* 62:19-24.
- Weisel T, Baum M, Eisenbrand G, Dietrich H, Will F, Stockis JP, Kulling S, Rufer, C, Johannes C, Janzowski C. 2006. An anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative DNA damage and increases glutathione level in healthy probands. *Biotechnol J* 1:388-397.
- Wu X, Pittman HE, McKay S, Prior RL. 2005. Aglycones and sugar moieties alter anthocyanin absorption and metabolism after berry consumption in weanling pigs. *J Nutr* 135:2417-2424.
- Youdim KA, Dobbie MS, Kuhnle G, Proteggente AR, Abbott NJ, Rice-Evans C. 2003. Interaction between flavonoids and the blood-brain barrier: *in vitro* studies. *J Neurochem* 85:180-192.
- Youdim KA, Shukitt-Hale B, Joseph JA. 2004. Flavonoids and the brain: Interactions at the blood-brain barrier and their physiological effects on the central nervous system. *Free Radical Biol Med* 37:1683-1693.
- Zubik L, Meydani M. 2003. Bioavailability of soybean isoflavones from aglycone and glucoside forms in american women. *Am J Clin Nutr* 77:1459-1465.

