

3. MATERIAIS E MÉTODOS

A parte experimental deste trabalho foi realizada no Laboratório de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde, e as dosagens foram efetuadas nos Laboratórios de Química Analítica do Departamento de Química, Laboratório de Bioquímica da Vila Gianetti, pertencente ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, todos na Universidade Federal de Viçosa-UFV (MG).

Cinco experimentos foram realizados para avaliar efeitos dos flavonóides, medicamentos e corantes naturais isoladamente e associados. Os flavonóides testados foram: morina, quercetina, rutina e naringenina. Os medicamentos testados foram ácido nicotínico e colestiramina. Os corantes naturais, antocianinas de uvas e *Monascus*.

3.1. Origem e alojamento dos animais

Foram utilizados ratos machos, albinos, da raça Wistar, pesando em média 180 -200 g, fornecidos pelo Departamento de Nutrição e Saúde da UFV. No período de adaptação (cinco dias) e durante todos os ensaios biológicos, os animais foram mantidos em gaiolas individuais (Figura 13), em ambiente com ciclos de claro/escuro de 12 h, com temperatura controlada (cerca de 22°C), recebendo ração e água à vontade.

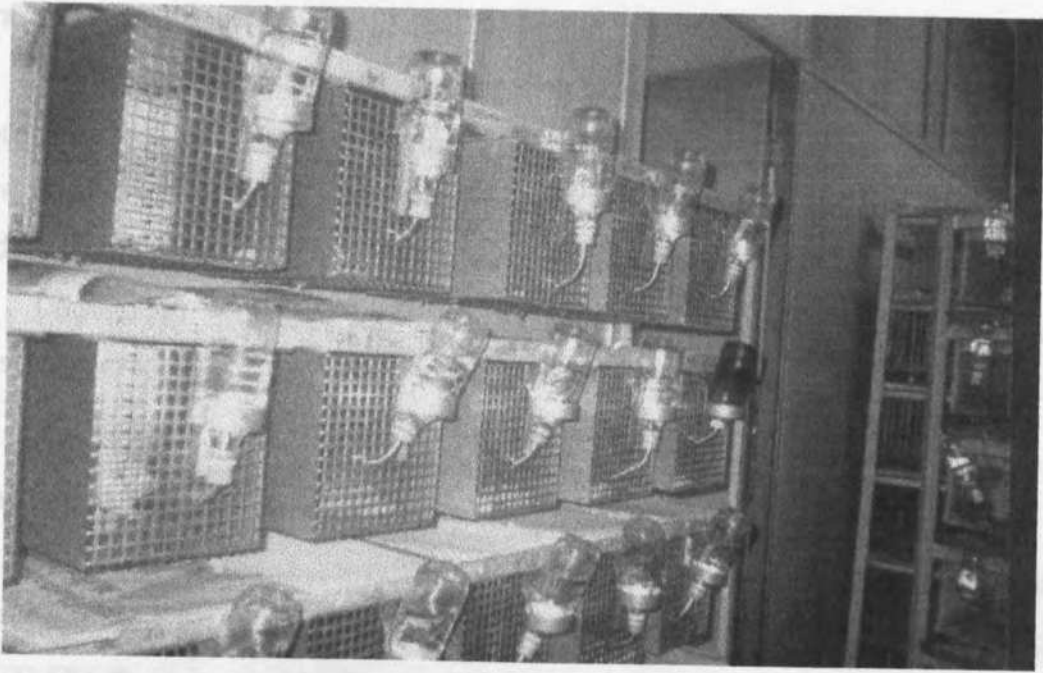


Figura 13 - Gaiolas onde os animais permaneceram durante os experimentos.

3.2. Delineamento experimental

Os experimentos 1, 3 e 5 foram instalados no delineamento inteiramente ao acaso, com 11 tratamentos, em oito repetições.

O experimento 2 foi instalado no delineamento inteiramente ao acaso, com 7 tratamentos, em oito repetições.

O experimento 4 foi instalado no delineamento inteiramente ao acaso, com 14 tratamentos, em oito repetições.

Os tratamentos foram constituídos pelos controles e pelos grupos tratados.

3.3. Corantes naturais testados

Os corantes utilizados neste trabalho foram fornecidos pela Christian Hansen Ind. e comércio Ltda., com as seguintes especificações.

Corante monascus

Pó fino para preparação de alimentos asiáticos. O produto fornece uma coloração vermelho-típica, resultado da fermentação do amido de arroz pelo microorganismo *Monascus purpureus*. O preparado é utilizado como condimento em alimentos, na dosagem de 0,5-1 g/kg.

Legislação: produto incluído na nomenclatura de substâncias sem quaisquer objeções.

Corante natural antocianina em pó

Corante em pó hidrossolúvel, produzido a partir da extração aquosa da casca de uva. O extrato é concentrado por evaporação a vácuo, durante a qual as impurezas são removidas. Em valores de pH abaixo de 5,0, fornecem tonalidades que variam de rosa-clara a vermelho-framboesa. Em valores de pH maiores que 5,0, variam de vermelho-azulada a azul.

Legislação: isento de registro no Ministério da Saúde, conforme Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969, capítulo X, artigos 57 e 58.

Em todos os experimentos, foram analisados os efeitos das várias associações nas concentrações séricas de colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis.

3.4. Flavonóides testados

Foram testados os seguintes flavonóides: morina, quercetina, naringenina e rutina puros da marca SIGMA.

3.5. Medicamentos testados

Foram testados os seguintes medicamentos: ácido nicotínico e colestiramina provenientes da SIGMA.

3.6. Experimentos conduzidos

Experimento nº 1

Os animais foram distribuídos em 11 grupos experimentais, contendo oito animais cada um, ao acaso, sendo que os animais receberam os seguintes tratamentos:

- Grupo 1-** (Ração);
- Grupo 2-** (Ração + Triton);
- Grupo 3-** (Ração + Triton + Morina);
- Grupo 4-** (Ração + Triton + Quercetina);
- Grupo 5-** (Ração + Triton + Naringenina);
- Grupo 6-** (Ração + Triton + Rutina);
- Grupo 7-** (Ração + Triton + Ácido Nicotínico);
- Grupo 8-** (Ração + Triton + Morina + Ácido Nicotínico);
- Grupo 9-** (Ração + Triton + Quercetina + Ácido nicotínico);
- Grupo 10-** (Ração + Triton + Naringenina + Ácido Nicotínico); e
- Grupo 11-** (Ração + Triton + Rutina + Ácido nicotínico).

Para induzir a hiperlipidemia, foi administrado, por via intraperitoneal, Triton na dose de 300 mg/kg de peso corporal, dissolvido em solução fisiológica de NaCl a 0,9%. Essa dose tem demonstrado em trabalhos científicos ser capaz de causar hiperlipidemia em ratos (MATHUR, et al., 1964). Depois de 24 h da administração do Triton, os flavonóides (morina, quercetina, naringenina, rutina) e o medicamento ácido nicotínico foram administrados isoladamente e também suas respectivas associações (flavonóides e ácido nicotínico). A via de administração e o veículo foram os mesmos. Os animais receberam uma única dose desses compostos na concentração de 5,0 mg/kg de peso corporal.

Decorridas 24 h, os animais foram anestesiados com éter etílico, por via inalatória (Figura 14).

As amostras de sangue foram retiradas por punção cardíaca (Figura 15). Essas foram centrifugadas a 7.000 G, por 15 min, obtendo-se o soro para a dosagem de colesterol, colesterol-HDL, triacilgliceróis, utilizando-se para isso Kits enzimáticos da marca Laborlab®, e para as quantificações utilizou-se espectrofotômetro da marca Hitachi (2.000). Também foi retirado o fígado dos mesmos animais, os quais em seguida foram lavados em solução de NaCl (0,9%) e armazenados adequadamente a -20°C , para posterior dosagem de colesterol total, utilizando-se kits enzimáticos da marca Laborlab®.

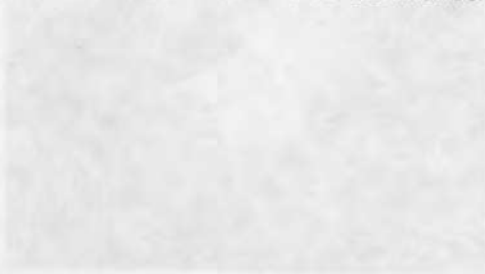


Figura 15 - Animal sendo sacrificado.

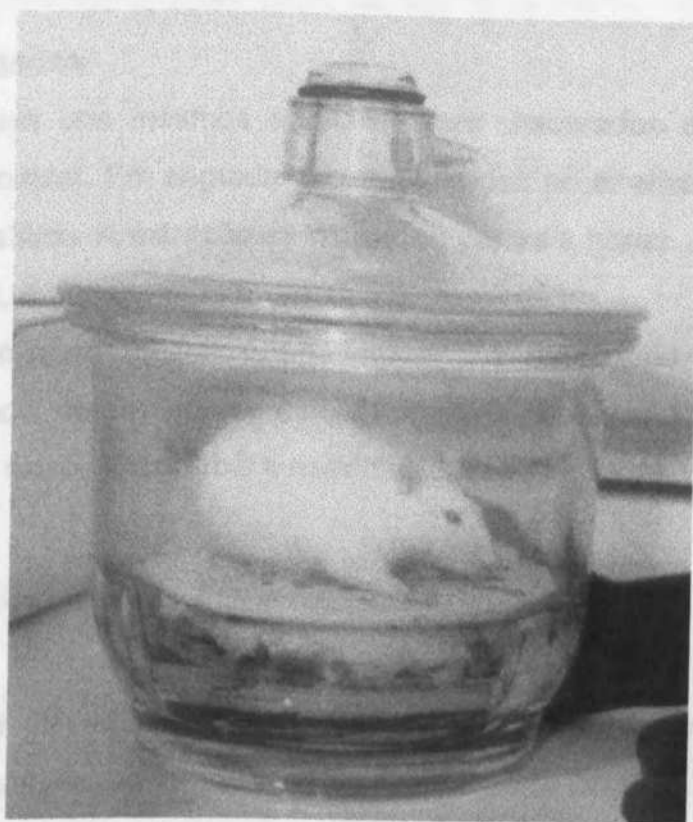


Figura 14 - Animal sendo anestesiado por via inalatória.



Figura 15 - Animais sendo sacrificados.

Análise dos fígados

Os fígados dos mesmos animais foram macerados e colocados em cartuchos de soxhlet. Em seguida, foram inseridos no analisador de gordura, contendo éter etílico. A extração se procedeu por seis horas. Após, a amostra foi concentrada, e armazenada a -20°C .

A essa mistura foi adicionado propanona realizando-se a filtração a seguir. No filtrado, determinou-se o colesterol total, utilizando-se para isso kits enzimáticos da marca Laborlab® e espectrofotômetro Hitachi.

Experimento nº 2

Para o desenvolvimento adequado do ensaio, foram constituídos sete grupos experimentais, contendo, cada um deles, oito animais, que receberam os seguintes tratamentos:

Grupo 1- (Ração);

Grupo 2- (Ração+ Triton);

Grupo 3- (Ração + Triton + Morina);

Grupo 4- (Ração + Triton + Quercetina);

Grupo 5- (Ração + Triton + Colestiramina);

Grupo 6- (Ração + Triton + Morina + Colestiramina); e

Grupo 7- (Ração + Triton + Quercetina + Colestiramina).

Os tratamentos foram constituídos pelos controles e pelos grupos tratados conforme descrição acima. Para induzir a hiperlipidemia, administrouse, por via intraperitoneal, triton, na dose de 300 mg/kg de peso corporal dissolvido em solução de NaCl 0,9%. Essa dose tem demonstrado, em trabalhos científicos, ser capaz de causar hiperlipidemia em ratos (MATHUR, et al., 1964). Imediatamente após ser fornecido o triton, os compostos morina, quercetina, e colestiramina foram administrados na dose de 5,0 mg/kg de peso misturados à ração. Decorridas 24 h dessas aplicações, foram retiradas amostras de sangue por punção cardíaca, sendo centrifugadas a 7.000 G por 15 min para a separação do soro. A seguir, foram dosados colesterol, colesterol-HDL e triacilgliceróis, utilizando-se kits enzimáticos da marca Laborlab®.

Análise dos fígados

A metodologia utilizada nesse experimento foi idêntica à do experimento 1.

Experimento nº 3

No desenvolvimento desse ensaio, foi utilizada a metodologia do experimento 1. Além disso, os grupos constituídos foram os mesmos, mas utilizando-se duas doses. A primeira dose, logo após a administração do triton; e a segunda dose, 20 h depois. Os animais foram sacrificados 43 h após a

aplicação do triton para serem realizadas as dosagens de lipídeos no soro e no fígado dos animais.

Análise dos fígados

As quantificações de constituintes lipídicos foram realizadas pelo mesmo método utilizado no experimento 1.

Experimento nº4

Foram constituídos 14 grupos experimentais, contendo, cada um, oito animais que receberam os seguintes tratamentos:

Grupo 1- (Ração);

Grupo 2- (Ração + Triton);

Grupo 3- (Ração + Triton + Morina);

Grupo 4- (Ração + Triton + Quercetina);

Grupo 5- (Ração + Triton + Naringenina);

Grupo 6- (Ração + Triton + Rutina);

Grupo 7- (Ração + Triton + Morina + *Monascus*);

Grupo 8- (Ração + Triton + Morina + Antocianina);

Grupo 9- (Ração + Triton + Quercetina + *Monascus*);

Grupo 10- (Ração + Triton + Quercetina + Antocianina);

Grupo 11- (Ração + Triton + Naringenina + *Monascus*);

Grupo 12- (Ração + Triton + Naringenina + Antocianina);

Grupo 13- (Ração + Triton + Rutina + *Monascus*); e

Grupo 14- (Ração + Triton + Rutina + Antocianina).

Para induzir a hiperlipidemia, foi administrado triton, por via intraperitoneal, na dose de 300mg/kg de peso corporal. Essa dose tem demonstrado, em trabalhos científicos, ser capaz de causar hiperlipidemia em ratos (MATHUR, et al., 1964).

Os flavonóides (quercetina, morina, naringenina, rutina) e os corantes naturais *Monascus* e antocianina foram fornecidos isoladamente e também

associados a flavonóides, na dose de 5,0 mg/kg de peso corporal, por via intraperitoneal, e utilizando-se propilenoglicol como veículo. Após 20 h, o tratamento foi repetido com todas as substâncias testadas. Após 43 h da aplicação de uma única dose de triton, os ratos foram anestesiados com éter etílico, por via inalatória, sendo retiradas as amostras de sangue por punção cardíaca, e centrifugadas a 7.000 G, durante 15 min, para obtenção do soro. As dosagens sorológicas foram efetuadas utilizando kits enzimáticos da marca laborlab®.

Análise de fígados

As análises do fígado foram idênticas às do experimento 1.

Experimento nº 5

Foram constituídos 11 grupos experimentais, contendo, cada um, oito animais, que receberam os seguintes tratamentos:

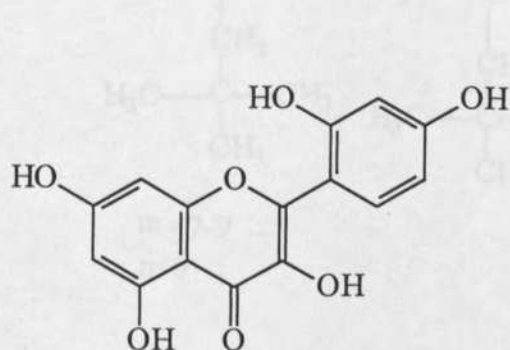
- Grupo 1-** (Ração);
- Grupo 2-** (Ração + Colesterol + Ácido Cólico);
- Grupo 3-** (Ração + Colesterol + Ácido Cólico + Quercetina);
- Grupo 4-** (Ração + Colesterol + Ácido Cólico + Rutina);
- Grupo 5-** Ração + Colesterol + Ácido Cólico + Morina);
- Grupo 6-** (Ração + Colesterol + Ácido Cólico + Naringenina);
- Grupo 7-** (Ração + Colesterol + Ácido Cólico + Colestiramina);
- Grupo 8-** (Ração + Colesterol + Ácido Cólico + Colestiramina + Quercetina);
- Grupo 9-** (Ração + Colesterol + Ácido Cólico + Colestiramina + Rutina);
- Grupo 10-** (Ração + Colesterol + Ácido Cólico + Colestiramina + Morina);
- Grupo 11-** (Ração + Colesterol + Ácido cólico + Colestiramina + Naringenina).

Para induzir a hiperlipidemia, foram administrados, por via oral, colesterol e ácido cólico, nas doses de 1,0 e 0,1%, respectivamente. Imediatamente após, administraram-se os compostos morina, quercetina, rutina e naringenina, na dose de 30mg; e colestiramina, na dose de 10mg, por via oral, na ração. Esses tratamentos foram repetidos durante 30 dias. No 31º

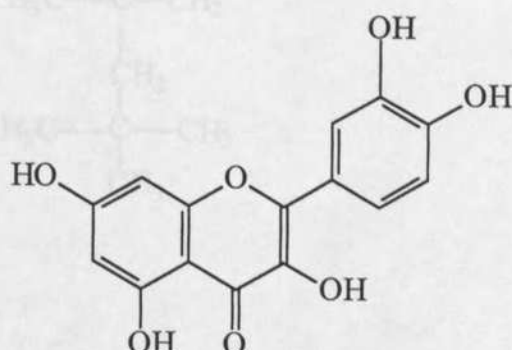
dia, os animais foram anestesiados por via inalatória (utilizando éter etílico). Foram retiradas amostras de sangue por punção cardíaca, sendo centrifugadas a 7000 G, por 15 min, para a separação do soro. A seguir, foram dosados colesterol, colesterol-HDL e triacilgliceróis, utilizando-se, para isso, Kits enzimáticos da marca Laborlab®.

3.7. Estruturas de todos os compostos testados

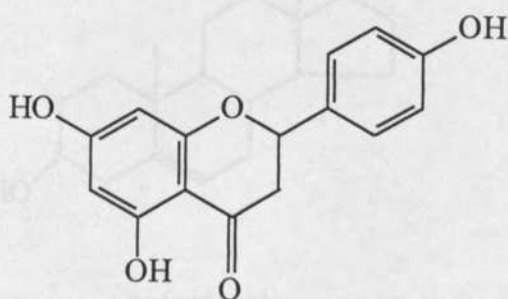
Flavonóides



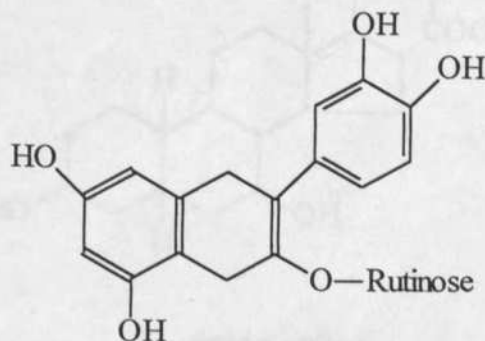
morina



quercetina

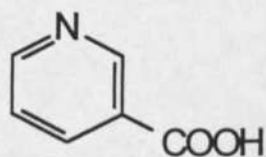


naringenina

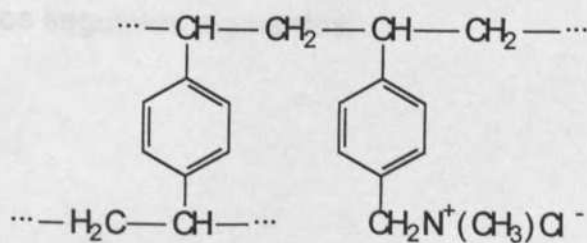


rutina

Medicamentos

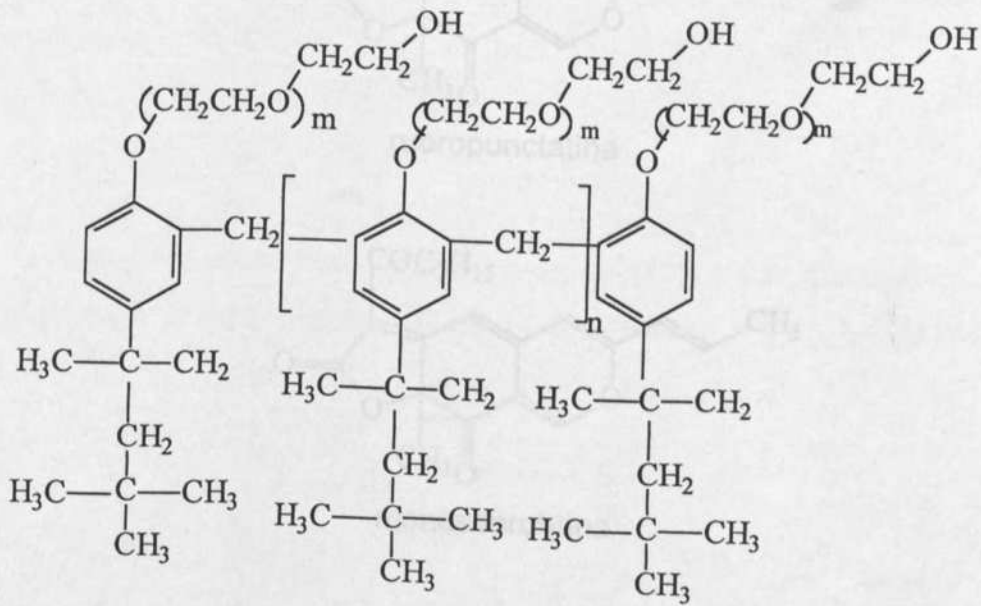


ácido nicotínico

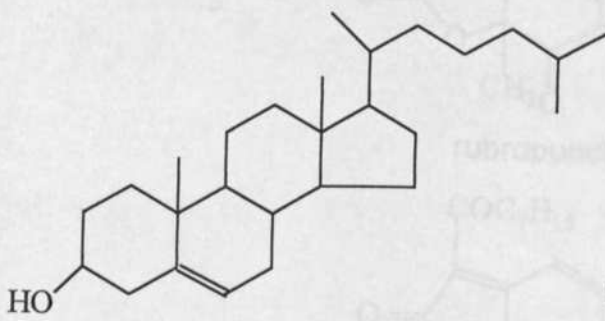


colestiramina

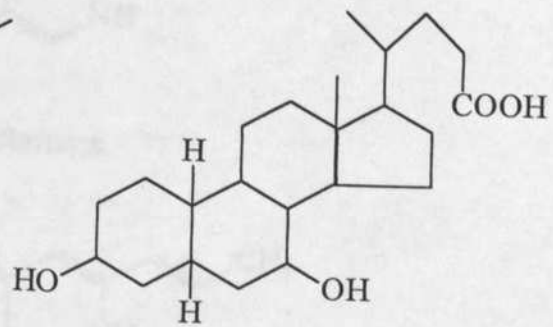
Substâncias utilizadas para induzir a hiperlipidemia



triton



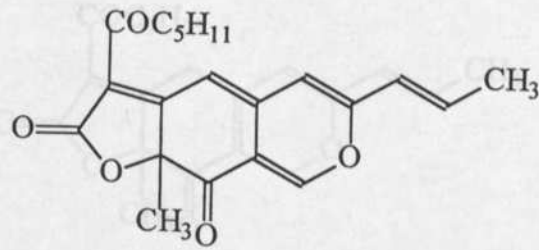
colesterol



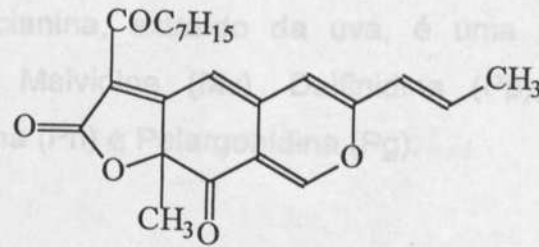
ácido cólico

Corantes naturais utilizados

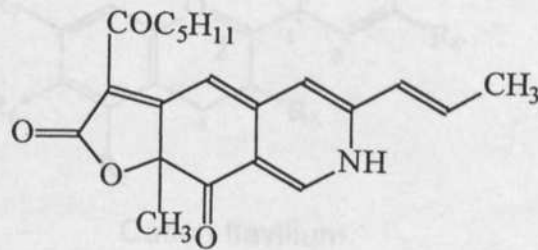
O corante *Monascus* é uma mistura dos seguintes pigmentos:



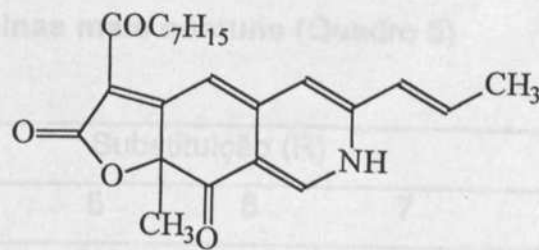
rubropunctatina



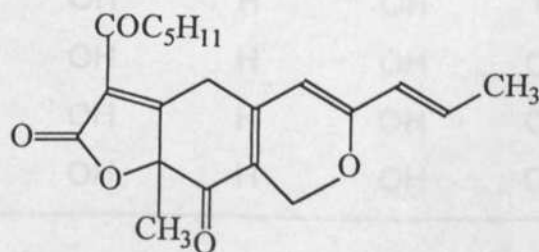
monascorubrina



rubropunctamina



monacorubramina



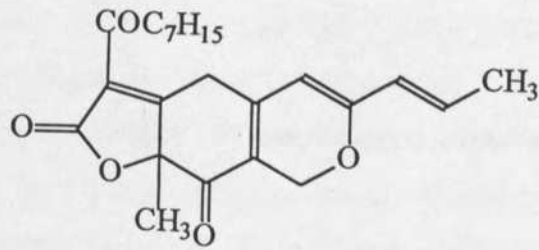
monascina

O corante antocianina da uva é uma mistura de vários pigmentos tais como: Melanidina (Me), Petunidina (Pn), Cianidina (Cy), Peonidina (Pe), Delphinidina (Dp).

Estruturas de antocianinas (Quadro 5)

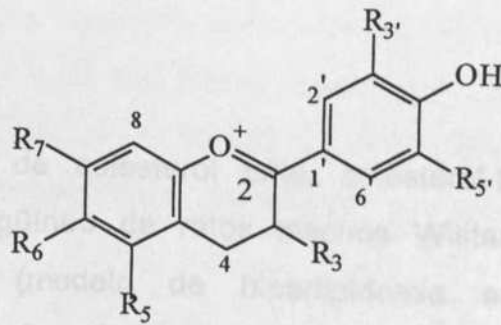
Antocianina	3	5	7	3'	5'
Pg	OH	OH	OH	H	H
Cy	OH	OH	OH	OH	H
Dp	OH	OH	OH	OH	OH
Pn	OH	OH	OH	OMe	OH
Me	OH	OH	OH	OMe	OMe
Pe	OH	OH	OH	OMe	OMe

Fonte: HARBORNE (1994).



ankaflavina

O corante antocianina, extraído da uva, é uma mistura de vários pigmentos tais como: Malvidina (Mv), Delfinidina (Pp), Petunidina (Pt), Cianidina (Cy), Peonidina (Pn) e Pelargonidina (Pg).



Cátion flavilium

Estruturas de antocianinas mais comuns (Quadro 5)

Antocianina	Substituição (R)					
	3	5	6	7	3'	5'
Pg	OH	OH	H	OH	H	H
Cy	OH	OH	H	OH	OH	H
Dp	OH	OH	H	OH	OH	OH
Pn	OH	OH	H	OH	OMe	OH
Mv	OH	OH	H	OH	OMe	OMe
Pt	OH	OH	H	OH	OMe	OMe

Fonte: HARBORNE (1994).

Pelo Quadro 8, podemos observar que todos os tratamentos apresentaram um percentual de redução muito bom. O tratamento com a morina (grupo3), por exemplo, teve um menor percentual de redução entre os tratamentos efetivos, porém, não é considerado bastante significativo, pois os melhores medicamentos reduzem o colesterol em aproximadamente 30%. O grupo que recebeu somente o ácido nicotínico (grupo 7) foi o que apresentou maior percentual de redução de 84,1, quando comparado ao controle.

O ácido nicotínico apresenta seus efeitos hipolipidêmicos por atuar a nível de tecido adiposo, como é mostrado na Figura 18 (SIED et al., 1993).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação a presença de hidroxilação do C-3, tanto na morina como na quercetina, com o triton, observamos, pois, quanto maior o nº de hidroxilas ligadas ao anel, maior será sua afinidade. Registramos, ainda, seu

Experimento nº 1

Os resultados de colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis obtidos do soro sangüíneo de ratos machos Wistar, com hiperlipidemia induzida por triton (modelo de hiperlipidemia artificial, usado para experimentos de curta duração) e os níveis de colesterol total no fígado dos mesmos animais, se encontram nos Quadros 6, 7, 8, 9 respectivamente.

Quadro 6 - Médias de colesterol (\pm erro-padrão)

Grupos	Colesterol (mg/dl)	% de Variação
1 Ração	26,36 \pm 0,70	-
2 Ração + Triton	262,11 \pm 13,96	-
3 Ração + Triton + Morina	88,58 \pm 1,74 ab	-66,21 *
4 Ração + Triton + Quercetina	83,61 \pm 1,89 b	-68,10 *
5 Ração + Triton + Naringenina	47,57 \pm 1,90 c	-81,85 *
6 Ração + Triton + Rutina	103,09 \pm 2,52 ab	-60,67 *
7 Ração + Triton + Ácido Nicotínico	41,81 \pm 1,00 c	-84,05 *
8 Ração + Triton + Ác.Nicotínico + Morina	90,58 \pm 2,16 ab	-65,44 *
9 Ração + Triton + Ác.Nicotínico + Quercetina	108,57 \pm 1,57 a	-58,58 *
10 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Naringenina	54,53 \pm 1,07 c	-79,20 *
11 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Rutina	39,68 \pm 0,98 c	-84,86 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

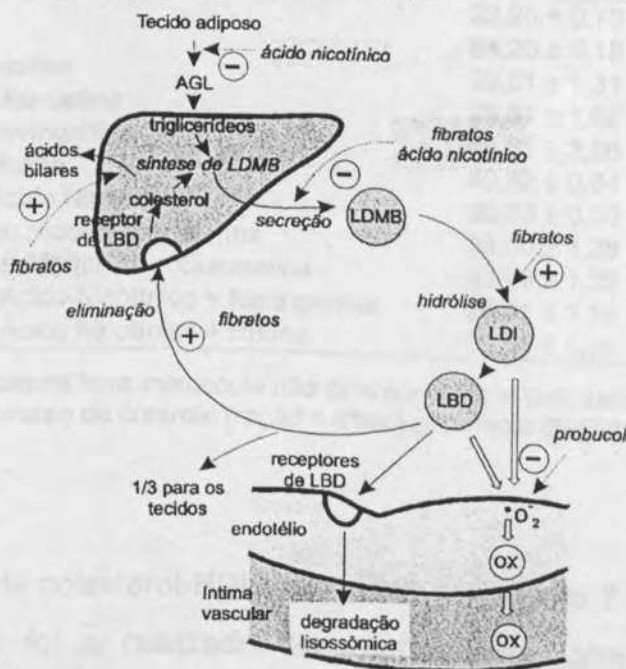
* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Pelo Quadro 6, pode-se observar que todos os tratamentos apresentaram um percentual de redução muito bom. O tratamento com a morina (grupo3), por exemplo, teve um menor percentual de redução entre os tratamentos efetuados, mas pode ser considerado bastante significativo, pois os melhores medicamentos reduzem o colesterol em aproximadamente 30%. O grupo que recebeu somente ácido nicotínico (grupo 7) foi o que apresentou maior percentual de redução (84,05%), quando comparado ao controle.

O ácido nicotínico demonstra seus efeitos hipolipidêmicos por inibir a lipólise de tecido adiposo, como é mostrado na Figura 16 (SEED et al., 1993).

Com relação à estrutura-atividade de flavonóides, determinou-se que a presença de hidroxilas na posição do C-3, tanto na morina como na quercetina, conferem-lhe maior atividade, pois, quanto maior o nº de hidroxilas ligadas ao anel, maior será seu poder antioxidante. Registra-se, ainda, seu efeito inibitório sobre a peroxidação lipídica. A ligação dupla entre o C-2 e o C-3 confere menor efeito peroxidativo à morina.

Exportação e Importação Hepáticas de Lípidos



Fonte: OPIE, 1997.

Figura 16 - Mecanismo de ação do ácido nicotínico e dos fibratos.

Os flavonóides como a quercetina e a morina, que têm grupo carbonila no C-4 e hidroxiladas em C-3 ou C-5, possuem a capacidade de seqüestrar íons metálicos, prevenindo assim a formação de radicais livres.

DE WALLEY et al. (1990) têm mostrado que os flavonóides são capazes de inibir a oxidação do LDL induzido pelo estresse oxidativo ou por macrófagos, prevenindo a citotoxicidade correlacionada com LDL oxidada (NEGRE-SALVAYRE e SALVAYRE, 1992). Provavelmente, os flavonóides inibem a modificação oxidativa do LDL por inibição da geração de hidroperóxidos e por proteger o α -tocoferol presente em lipoproteínas oxidadas (JESSUP et al., 1990).

Dessa forma, pode-se perceber que a absorção de lipídeos está sendo afetada por esse efeito dos flavonóides.

Quadro 7 - Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão)

Grupos	Colesterol-HDL(mg/dL)	% de Variação
1 Ração	22,25 \pm 0,79	-
2 Ração + Triton	64,20 \pm 0,18	-
3 Ração + Triton + Morina	30,51 \pm 1,31 d	-52,48 *
4 Ração + Triton + Quercetina	29,51 \pm 1,67 d	-54,03 *
5 Ração + Triton + Naringenina	46,61 \pm 2,06 a	-27,40 *
6 Ração + Triton + Rutina	40,62 \pm 0,64 b	-36,73 *
7 Ração + Triton + Ácido Nicotínico	30,33 \pm 0,50 d	-52,76 *
8 Ração + Triton + Ác.Nicotínico + Morina	38,50 \pm 1,38 bc	-40,03 *
9 Ração + Triton + Ác.Nicotínico + Quercetina	33,76 \pm 1,32 cd	-47,41 *
10 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Naringenina	22,31 \pm 1,38 e	-65,25 *
11 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Rutina	39,96 \pm 1,31 b	-37,76 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Os valores de colesterol-HDL mostrados no Quadro 7 evidenciam que o melhor tratamento foi o realizado com naringenina (grupo 5), pois esse tratamento apresentou menor percentagem de redução (27,40%). Isso é uma vantagem, uma vez que o colesterol-HDL é o responsável pelo transporte de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado, onde sofre metabolização.

Portanto, a substância que o reduziu menos é mais interessante para este estudo.

Sabe-se que a capacidade de absorver colesterol varia segundo a espécie. Os dados mostram que de 2,0 a 4,0 mg/kg de peso corporal são absorvidos pelo homem, pelos cães e roedores, que podem absorver 35 a 50 vezes mais (RUDNEY e SEXTON, 1986; LEITE, 1993).

DI CARLO et al. (1992) mostram o efeito da administração intraperitoneal de alguns flavonóides, dentre eles naringenina e rutina, nas doses de 12,5 e 50 mg/kg de peso corporal. Os autores mostram que um dos mecanismos de ação desses flavonóides seria a inibição da motilidade intestinal mediada por receptores α_2 adrenérgicos e cálcio.

Assim, observa-se que os flavonóides afetam a absorção de colesterol, de forma que essa taxa de absorção pode diminuir, levando a menores teores desse lipídeo.

Segundo SEED et al. (1993), o ácido nicotínico aumenta os níveis de colesterol-HDL. Seu mecanismo de ação é conhecido por inibir a lipólise do tecido adiposo, reduzindo a esterificação de triacilgliceróis e aumentando a atividade da lipase lipoprotéica no fígado.

Quadro 8 - Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão)

Grupos	Triacilgliceróis (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	160,68 \pm 2,68	-
2 Ração + Triton	308,90 \pm 2,82	-
3 Ração + Triton + Morina	98,46 \pm 1,56 b	-68,13 *
4 Ração + Triton + Quercetina	126,50 \pm 1,90 a	-59,05 *
5 Ração + Triton + Naringenina	105,06 \pm 1,03 b	-65,99 *
6 Ração + Triton + Rutina	72,41 \pm 1,43 d	-76,56 *
7 Ração + Triton + Ácido Nicotínico	102,75 \pm 0,54 b	-66,74 *
8 Ração + Triton + Ác.Nicotínico + Morina	88,56 \pm 1,76 c	-71,33 *
9 Ração + Triton + Ác.Nicotínico + Quercetina	119,62 \pm 2,46 a	-61,28 *
10 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Naringenina	101,13 \pm 1,56 b	-67,26 *
11 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Rutina	119,92 \pm 1,19 a	-61,18 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

No Quadro 8, são apresentados os resultados de triacilgliceróis do soro sangüíneo de ratos. Todos os tratamentos realizados foram muito eficientes, pois reduziram significativamente os níveis desse lipídeo.

Entre os tratamentos, o que apresentou maior percentual de redução (76,56%) foi a rutina (grupo 6).

GOMES (1998) testou três doses de morina (5,0,10 e 15 mg) e verificou que a dose de 5,0 mg foi suficiente para uma considerável percentagem de redução no nível de triacilgliceróis. Nesse mesmo estudo, foi testado o efeito desse flavonóide sobre a atividade da lipase, mostrando que essa enzima teve sua atividade aumentada.

BAGAVAN (1977) relata que o efeito de flavonóides sobre o hormônio tireoideano, influenciando atividade da 5' deiodinase, inibe a reação de conversão do AMP_c em 5' AMP, fazendo com que O AMP_c ative a proteína quinase, conforme Figura 19.

Os flavonóides inibem a agregação plaquetária, mantêm a integridade vascular, inibem a peroxidação lipídica e a atividade das enzimas lipoxigenase, fosfolipase A₂, fosfofrutoquinase, inibem, ainda, a oxidação de LDL, e promovem efeitos vasodilatadores (FORMICA e REGELSON, 1995).

A naringenina e a rutina, dentre outros flavonóides, são potentes inibidores de eicosanóides e potencializam a atividade antiagregatória PGI₂, bloqueando, também, os receptores de tromboxanas sobre as plaquetas.

O ácido nicotínico tem ações diversas, que afetam o metabolismo lipídico, diminuindo a liberação de ácidos graxos para o fígado, a síntese de triacilgliceróis e o transporte de triacilgliceróis-VLDL (GOODMANS, 1996).

Os resultados encontrados no Quadro 9 demonstram que o tratamento com naringenina e ácido nicotínico (grupo 11) apresentaram maior percentual de redução (68,54%). Destaca-se também o efeito sinérgico acentuado dos flavonóides com ácido nicotínico.

Em células do fígado de mamíferos pode ocorrer síntese e degradação de lipídeos. Pelos resultados obtidos, observa-se que os compostos testados estão afetando a síntese do colesterol. A regulação da síntese de colesterol, no fígado, pode ser feita via inibição de enzimas da rota de síntese, bem como regulação da síntese de receptores de LDL.

Quadro 9 - Médias de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado

Grupos	Colesterol total (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	50,39 \pm 3,70	-
2 Ração + Triton	106,42 \pm 5,21	-
3 Ração + Triton + Ácido Nicotínico	71,58 \pm 4,45 a	-32,74 *
4 Ração + Triton + Quercetina	57,02 \pm 3,94 ab	-46,42 *
5 Ração + Triton + Naringenina	53,66 \pm 4,27 abc	-49,58 *
6 Ração + Triton + Morina	66,41 \pm 5,96 a	-37,60 *
7 Ração + Triton + Rutina	67,33 \pm 5,34 a	-36,73 *
8 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Quercetina	44,04 \pm 3,47 bc	-58,62 *
9 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Naringenina	42,33 \pm 4,65 bc	-60,22 *
10 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Morina	36,17 \pm 3,30 c	-66,01 *
11 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Rutina	33,48 \pm 4,47 c	-68,54 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).
 * Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

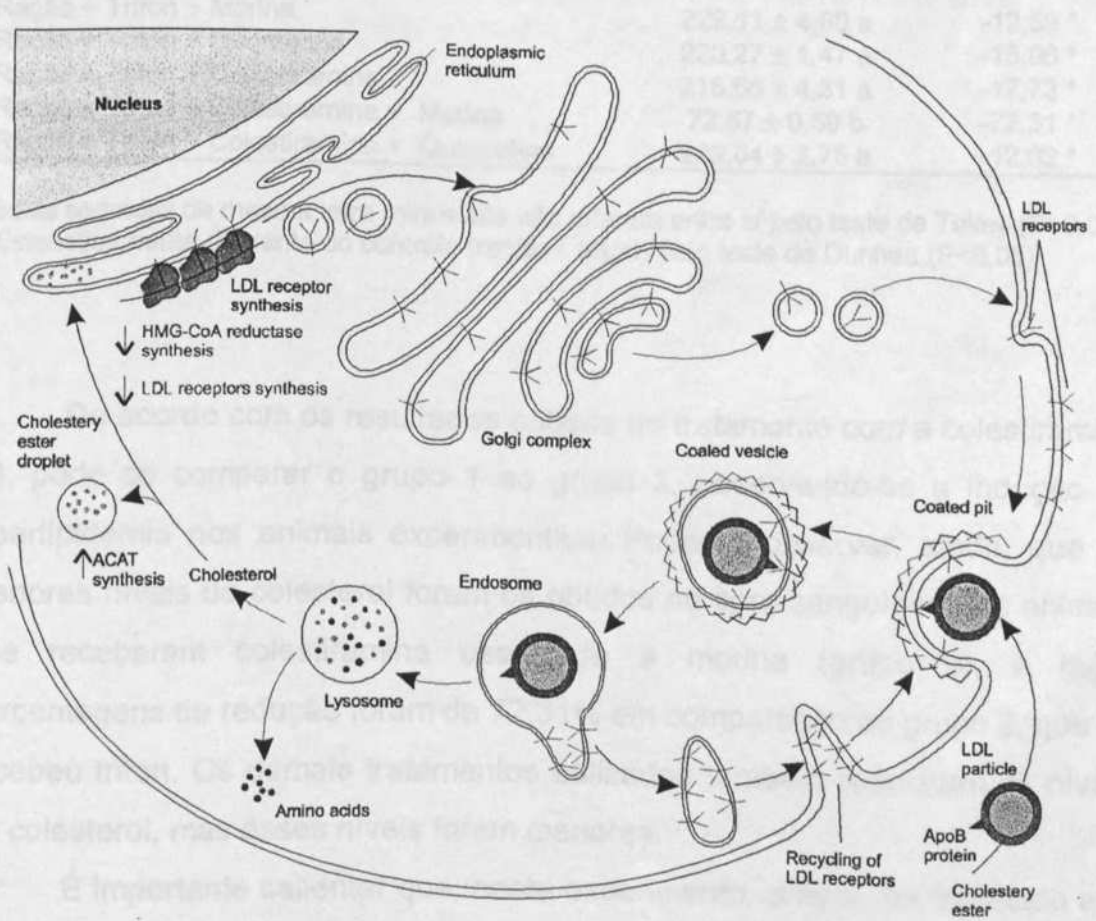
KIRK et al. (1998) observaram que flavonóides fornecidos a ratos mostraram um potente efeito ativador sobre os receptores de LDL. Os flavonóides testados foram genisteína (0,027g/100g) e daidzeína (0,009g/100g). Este estudo mostra um dos mecanismos de ação de flavonóides na redução de colesterol. Ao aumentar a atividade de receptores de LDL, que são sintetizados no retículo endoplasmático do fígado, esses podem sofrer degradação lisossomal causando decréscimo da síntese de HMG-CoA-redutase (enzima da rota de síntese do colesterol) e aumento da atividade da acil-coA:colesterol transferase (ACAT). O LDL contém 1.500 moléculas de éster de colesterol e 500 moléculas de colesterol. Esse processo é demonstrado na Figura 17.

Experimento nº 2

Os valores obtidos no experimento 2, para o colesterol, colesterol HDL e triglicéridos do soro sanguíneo e colesterol total do fígado de ratos da linhagem Wistar, sendo a hiperlipidemia induzida por dieta (modelo de hiperlipidemia artificial, usado para experimentos de curta duração) e com as substâncias administradas, por via oral, na ração, constam dos Quadros 10, 11, 12 e 13.

Quadro 10 - Médias de colesterol (\pm erro-padrão)

Grupo	Colesterol (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	36,58 \pm 0,70	
2 Ração + óleo	86,21 \pm 1,13 90	
3 Ração + óleo + beta	23,91 \pm 4,57	-17,59*
4	82,27 \pm 1,4	-15,20*
5	21,55 \pm 4,31	-77,73*
6	72,97 \pm 0,99	-2,31
7	24,3 \pm 2,75	-75,2*



Fonte: VOET e VOET (1995).

Figura 17 - Receptores de LDL mediando a endocitose em células de mamíferos.

Experimento nº 2

Os valores obtidos no experimento 2, para o colesterol, colesterol HDL e triacilgliceróis no soro sangüíneo e colesterol total do fígado de ratos machos Wistar, tendo a hiperlipidemia induzida por triton (modelo de hiperlipidemia artificial, usado para experimentos de curta duração) e com as substâncias administradas, por via oral, na ração, constam dos Quadros 10, 11, 12 e 13.

Quadro 10 - Médias de colesterol (\pm erro-padrão)

Grupos	Colesterol (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	26,36 \pm 0,70	-
2 Ração + Triton	262,11 \pm 13,96	-
3 Ração + Triton + Morina	229,11 \pm 4,80 a	-12,59 *
4 Ração + Triton + Quercetina	220,27 \pm 1,47 a	-15,96 *
5 Ração + Triton + Colestiramina	215,66 \pm 4,31 a	-17,72 *
6 Ração + Triton + Colestiramina + Morina	72,57 \pm 0,59 b	-72,31 *
7 Ração + Triton + Colestiramina + Quercetina	229,04 \pm 2,75 a	-12,62 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

De acordo com os resultados obtidos no tratamento com a colestiramina (5), pode se comparar o grupo 1 ao grupo 2, observando-se a indução da hiperlipidemia nos animais experimentais. Pode-se observar, ainda, que os menores níveis de colesterol foram os obtidos no soro sangüíneo dos animais que receberam colestiramina associada à morina (grupo 6), e cujas percentagens de redução foram de 72,31% em comparação ao grupo 2, que só recebeu triton. Os demais tratamentos utilizados também reduziram os níveis de colesterol, mas esses níveis foram menores.

É importante salientar que, neste experimento, o triton foi fornecido aos animais e, imediatamente após, foram administrados os diferentes tratamentos. Observa-se que as percentagem de redução dos grupos 3, 4, 5 e 7 foram menores pois, provavelmente, os compostos testados não tenham um efeito

imediatamente, impedindo a ação de o triton causar hiperlipidemia. Neste experimento, pode-se verificar que o efeito do triton não foi influenciado por esses tratamentos.

Quadro 11 - Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão)

Grupos	Colesterol-HDL (mg/dl)	% de Variação
1 Ração	22,25 \pm 0,79	-
2 Ração + Triton	64,20 \pm 0,18	-
3 Ração + Triton + Morina	61,21 \pm 4,23 c	-4,66
4 Ração + Triton + Quercetina	62,65 \pm 4,13 c	-2,41
5 Ração + Triton + Colestiramina	60,39 \pm 3,16 c	-5,93
6 Ração + Triton + Colestiramina + Morina	178,22 \pm 1,59 a	+177,60 *
7 Ração + Triton + Colestiramina + Quercetina	121,50 \pm 1,41 b	+89,25 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Pelo Quadro 11, pode-se constatar novamente que este mesmo tratamento foi capaz de elevar os níveis de colesterol-HDL para 177,60%, quando comparado aos tratamentos com triton (grupos 2), colestiramina e morina (grupo 6). Isso é uma vantagem, uma vez que o colesterol-HDL mobiliza o colesterol dos tecidos periféricos para o fígado onde é metabolizado. Também a associação colestiramina-quercetina (grupo 6) foi eficiente, uma vez que aumentou os níveis de colesterol-HDL para 89,25%.

O Quadro 12 mostra os efeitos sobre os níveis de triacilgliceróis, podendo-se observar que a colestiramina foi o melhor tratamento, pois foi o único que teve um efeito sobre a redução de 9% desse lipídeo. Neste estudo, pode-se constatar-se que os animais que receberam os flavonóides e a colestiramina, imediatamente após o fornecimento do triton, não parecem afetar diretamente o triton na indução da hiperlipidemia.

Quadro 12 - Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão)

Grupos	Triacilgliceróis (mg/dl)	% de Variação
1 Ração	160,68 \pm 2,68	-
2 Ração + Triton	308,90 \pm 2,82	-
3 Ração + Triton + Morina	375,38 \pm 4,85 b	+21,52 *
4 Ração + Triton + Quercetina	355,29 \pm 3,65 c	+15,02 *
5 Ração + Triton + Colestiramina	281,11 \pm 3,03 e	-9,00 *
6 Ração + Triton + Colestiramina + Morina	415,85 \pm 3,33 a	+34,62 *
7 Ração + Triton + Colestiramina + Quercetina	325,54 \pm 2,72 d	+5,39 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Quadro 13 - Valores médios de colesterol total (\pm erro-padrão)

O efeito de colestiramina sobre os níveis de triacilgliceróis aumentaram em pequenas quantidades nos primeiros dias de tratamento, e depois atingiram valores normais em alguns pacientes.

Quadro 13 - Valores médios de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado

Grupos	Colesterol total (mg/dl)	% de Variação
1 Ração	50,39 \pm 3,70	-
2 Ração + Triton	106,42 \pm 5,21	-
3 R + T + Morina	86,11 \pm 5,12 abc	-19,08
4 R + T + Quercetina	81,29 \pm 4,41 abc	-23,61 *
5 R + T + Colestiramina	90,60 \pm 3,85 ab	-14,87
6 R + T + Colestiramina + Morina	74,91 \pm 4,63 abc	-29,61 *
7 R + T + Colestiramina + Quercetina	69,70 \pm 4,75 bc	-34,50 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

De acordo com o Quadro 13, pode-se observar que a maior percentagem de redução foi obtida com a associação do grupo 7, colestiramina e quercetina (34,50%).

Experimento nº 3

Os resultados do colesterol, colesterol-HDL, e triacilgliceróis de soro sanguíneo e colesterol total no fígado de ratos machos Wistar, com hiperlipidemia induzida por triton (modelo de hiperlipidemia artificial, usado para experimentos de curta duração), quando foram administradas duas doses das substâncias, por via intraperitoneal, são apresentados nos Quadros 14, 15, 16 e 17.

Quadro 14 - Médias de colesterol (\pm erro-padrão)

Grupos	Colesterol (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	26,36 \pm 0,70	-
2 Ração + Triton	262,91 \pm 13,96	-
3 Ração + Triton + Morina	71,52 \pm 2,35 cde	-72,80 *
4 Ração + Triton + Quercetina	83,22 \pm 2,07 bcd	-68,35 *
5 Ração + Triton + Naringenina	90,79 \pm 2,37 abc	-65,36 *
6 Ração + Triton + Rutina	102,65 \pm 1,45 ab	-60,84 *
7 Ração + Triton + Ácido Nicotínico	104,62 \pm 2,28 a	-60,21 *
8 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Morina	60,58 \pm 2,12 e	-76,96 *
9 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Quercetina	66,48 \pm 1,68 de	-74,71 *
10 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Naringenina	72,66 \pm 2,52 cde	-72,28 *
11 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Rutina	81,46 \pm 3,21 bcde	-68,92 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).
* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

No Quadro 14, todos os tratamentos apresentaram percentuais de redução muito significativos, destacando-se o tratamento ácido nicotínico e morina (grupo 8), com um percentual de redução significativo, sendo, também, evidenciado um efeito sinérgico dos flavonóides com o ácido nicotínico.

Flavonóides têm demonstrado inibir a síntese de eicosanóides por inibição da atividade das lipoxigenases (YOSHIMOTO et al., 1993; KOSHUARA et al., 1983) e da ciclooxygenase (MORONEY et al., 1988), inibindo também a peroxidação não-enzimática de ácidos graxos

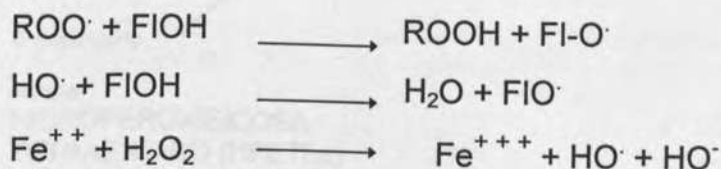
poliinsaturados, requerendo, para isso, a ativação dessas oxigenases (SWAIN, 1986), como demonstrado na Figura 18.

Estudos com ácido nicotínico também mostram seus efeitos sobre os níveis de colesterol, com uma percentagem de 25% de redução na dose de 4,0g/dia (YESHURUNA e GOTTO, 1995).

NAGEM et al. (1993) relatam o efeito hipolipidêmico de morina em ratos experimentais. Mecanismos de ação dos flavonóides (tais como a morina) mostram que estes doam hidrogênios para enzimas que se ligam a tocoferóis, prevenindo assim a modificação oxidativa do LDL, a migração de macrófagos e a formação de células em espuma (FORMICA e REGELSON, 1995).

Outro mecanismo de ação, citado por AFANAS et al. (1989) para flavonóides, mostra que esses podem reagir com íons superóxido, via transferência de um elétron com abstração simultânea de O_2^- e um átomo de hidrogênio e um próton proveniente do grupo hidroxil.

Reações propostas

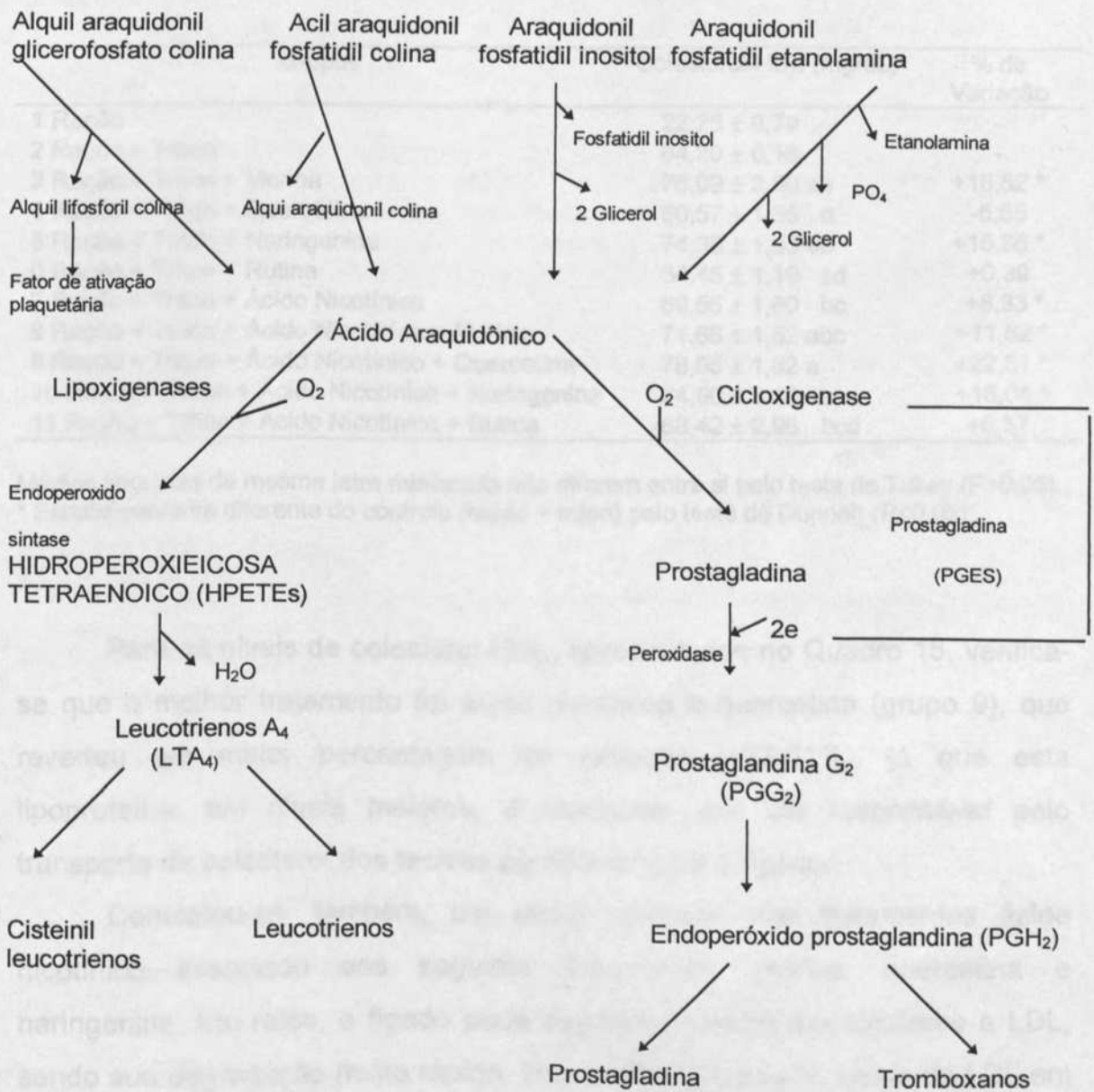


A literatura registra que um dos mecanismos de ação de flavonóides consiste em aumentar a excreção de colesterol e sais biliares (GOMES, 1998).

Uma das formas de eliminação do colesterol é pela formação de sais biliares, possibilitando a redução de seus níveis. Em ratos, além dos ácidos biliares cólico e quenodesoxicólico, um terceiro ácido biliar é o ácido murocólico. Esse é formado a partir de uma hidroxilação na posição 6 do ácido quenodesoxicólico. No hepatócito, são conjugados à taurina e à glicina (RIOTTOT, 1987; LEITE, 1993), facilitando a excreção de colesterol.

Os níveis de colesterol são reduzidos, pois, em ratos, cerca de 80 a 90% da eliminação do colesterol endógeno se faz pela transformação desses em ácidos biliares (LUTTON, 1990; LEITE, 1993). Já no homem, essa eliminação ocorre em torno de 50%, sendo o restante feito pela excreção de colesterol biliar (LINSCHER e VERGOESEN, 1988).

Quadro 15 - Metabolismo do colesterol-HDL (± erro-padrão)



Fonte: FORMICA e REGELSON (1995).

Figura 18 - Geração e disposição do ácido araquidônico.

Os níveis de colesterol são reduzidos, pois, em ratos, cerca de 80 a 90% da eliminação do colesterol endógeno se faz pela transformação desses em ácidos biliares (LUTTON, 1990; LEITE, 1993). Já no homem, essa eliminação ocorre em torno de 50%, sendo o restante feita pela excreção de colesterol biliar (LINSCHER e VERGOESEN, 1988).

Quadro 15 - Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão)

Grupos	Colesterol-HDL (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	22,25 \pm 0,79	-
2 Ração + Triton	64,20 \pm 0,18	-
3 Ração + Triton + Morina	76,09 \pm 2,50 ab	+18,52 *
4 Ração + Triton + Quercetina	60,57 \pm 1,35 d	-5,65
5 Ração + Triton + Naringenina	74,38 \pm 1,65 ab	+15,86 *
6 Ração + Triton + Rutina	64,45 \pm 1,19 cd	+0,39
7 Ração + Triton + Ácido Nicotínico	69,55 \pm 1,80 bc	+8,33 *
8 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Morina	71,66 \pm 1,82 abc	+11,62 *
9 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Quercetina	78,65 \pm 1,82 a	+22,51 *
10 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Naringenina	74,50 \pm 3,12 ab	+16,04 *
11 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Rutina	68,42 \pm 2,96 bcd	+6,57

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).
 * Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Para os níveis de colesterol-HDL, apresentados no Quadro 15, verifica-se que o melhor tratamento foi ácido nicotínico e quercetina (grupo 9), que reverteu em maior percentagem de variação (+22,51%), já que esta lipoproteína, em níveis maiores, é vantajosa, por ser responsável pelo transporte de colesterol dos tecidos periféricos para o fígado.

Constatou-se, também, um efeito sinérgico nos tratamentos ácido nicotínico associado aos seguinte flavonóides: morina, quercetina e naringenina. Em ratos, o fígado pode secretar lipoproteínas similares a LDL, sendo sua degradação muito rápida. Isso justifica os baixos níveis de LDL em ratos, sendo certas frações de HDL responsáveis pelo transporte de colesterol aos tecidos (MATHÉ e LUTTON, 1984; SPARKS e MARSH, 1981; LEITE, 1993). O fato de essa espécie possuir HDL₁, HDL₂ e HDL₃ facilita o seu

transporte, o que pode justificar as reduções obtidas nos níveis de colesterol (EISENBERG, 1984).

Quadro 16 - Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão)

Grupos	Triacilgliceróis (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	160,68 \pm 2,68	-
2 Ração + Triton	308,90 \pm 2,82	-
3 Ração + Triton + Morina	93,15 \pm 2,29 b	-69,84 *
4 Ração + Triton + Quercetina	98,23 \pm 1,34 ab	-68,20 *
5 Ração + Triton + Naringenina	69,99 \pm 1,99 cd	-77,34 *
6 Ração + Triton + Rutina	71,48 \pm 1,29 cd	-76,86 *
7 Ração + Triton + Ácido Nicotínico	104,56 \pm 1,69 a	-66,15 *
8 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Morina	50,52 \pm 1,69 f	-83,65 *
9 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Quercetina	79,65 \pm 1,69 c	-74,21 *
10 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Naringenina	58,37 \pm 2,93 ef	-81,10 *
11 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Rutina	63,48 \pm 2,86 de	-79,45 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Os resultados de triacilgliceróis, do soro sangüíneo de ratos, são apresentados no Quadro 16.

Todos os tratamentos realizados foram muito eficientes pois reduziram significativamente os níveis desse lipídeo.

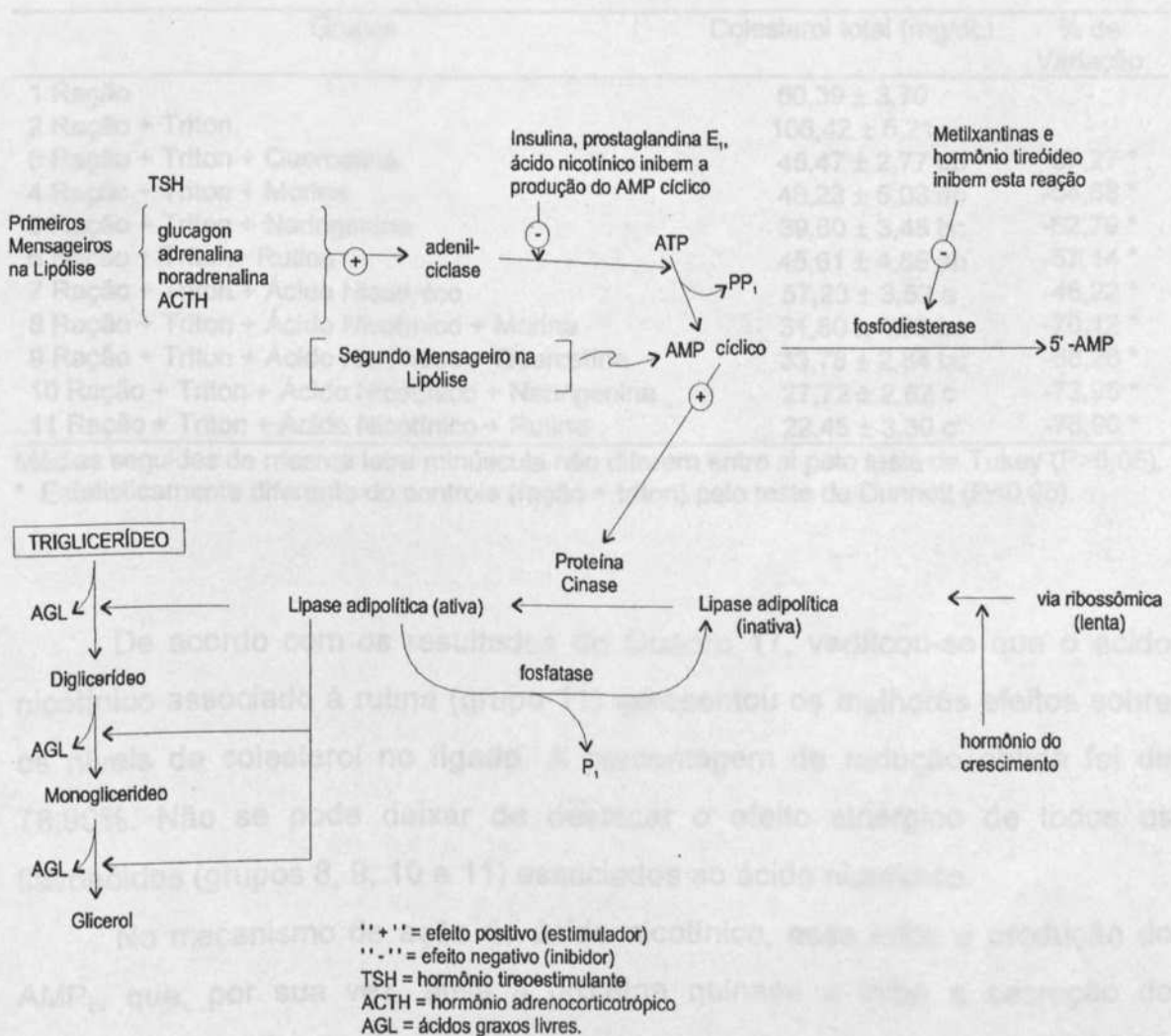
Entre os tratamentos efetuados, o que apresentou um percentual de redução maior foi (grupo 6) a rutina (76, 86%).

O ácido nicotínico pode diminuir a liberação dos ácidos graxos livres para o fígado e a síntese de triacilgliceróis. Portanto, seu efeito é potencializado pela morina e provoca reduções nos níveis plasmáticos de triacilgliceróis (GOODMANS et al., 1996).

Um dos mais potentes mecanismos de ação dos flavonóides é o que se refere à inibição mediada pela AMP_c que estimula a adenil ciclase ou inibe a atividade da AMP_c fosfodiesterase. O AMP_c age sobre a proteína quinase, por ser um modulador positivo da lipase. A lipase, por sua vez, hidrolisa os triacilgliceróis, conforme mostrado na Figura 19 (BAGAVAN, 1977).

Além desse mecanismo de ação dos flavonóides, verifica-se também que suas estruturas estão relacionadas às dos hormônios esteroidais, e essas possuem ações semelhantes às dos estrogênios. Em ratos, certos estrogênios, fornecidos em doses farmacológicas, induzem os receptores de lipoproteínas hepáticas responsáveis pela remoção do VLDL e LDL do plasma. Aumento no nº de receptores de lipoproteínas no fígado leva a maior eficiência na remoção das lipoproteínas do plasma (MIRK et al., 1998).

Quadro 17 - Médias de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado



Fonte: BAGAVAN (1977).

Figura 19 - Regulação hormonal da lipólise do tecido adiposo.

Além desse mecanismo de ação dos flavonóides, verifica-se também que suas estruturas estão relacionadas às dos hormônios esteroidais, e esses possuem ações semelhantes às dos estrogênios. Em ratos, certos estrogênios, fornecidos em doses farmacológicas, induzem os receptores de lipoproteínas hepáticas responsáveis pela remoção do VLDL e LDL do plasma. Aumento no nº de receptores de lipoproteínas no fígado leva a maior eficiência na remoção das lipoproteínas do plasma (KIRK et al., 1998).

Quadro 17 - Médias de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado

Grupos	Colesterol total (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	50,39 \pm 3,70	-
2 Ração + Triton	106,42 \pm 5,21	-
3 Ração + Triton + Quercetina	45,47 \pm 2,77 ab	-57,27 *
4 Ração + Triton + Morina	48,23 \pm 5,03 ab	-54,68 *
5 Ração + Triton + Naringenina	39,60 \pm 3,45 bc	-62,79 *
6 Ração + Triton + Rutina	45,61 \pm 4,89 ab	-57,14 *
7 Ração + Triton + Ácido Nicotínico	57,23 \pm 3,52 a	-46,22 *
8 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Morina	31,80 \pm 4,02 bc	-70,12 *
9 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Quercetina	33,78 \pm 2,84 bc	-68,26 *
10 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Naringenina	27,72 \pm 2,62 c	-73,95 *
11 Ração + Triton + Ácido Nicotínico + Rutina	22,45 \pm 3,30 c	-78,90 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

De acordo com os resultados do Quadro 17, verificou-se que o ácido nicotínico associado à rutina (grupo 11) apresentou os melhores efeitos sobre os níveis de colesterol no fígado. A percentagem de redução obtida foi de 78,90%. Não se pode deixar de destacar o efeito sinérgico de todos os flavonóides (grupos 8, 9, 10 e 11) associados ao ácido nicotínico.

No mecanismo de ação do ácido nicotínico, esse inibe a produção do AMP_c, que, por sua vez, ativa a proteína quinase e inibe a secreção de lipoproteína no fígado, incluindo o componente rico em triacilgliceróis-VLDL (OPIE, 1997).

Quanto ao mecanismo de ação, os flavonóides podem inibir vários estádios de iniciação da aterosclerose: lesão do endotélio; ativação de

leucócitos; adesão; secreção e agregação plaquetária. Flavonóides têm sido estudados por diminuir os níveis de lipídeos e colesterol (GABOR, 1988), podendo, ainda, aumentar os receptores de LDL no fígado, permitindo, assim, a redução dos níveis de colesterol (KIRK et al., 1998).

Os flavonóides podem aumentar a excreção de sais biliares nas fezes, além de possuir a capacidade de aumentar a atividade do sistema microsomal (sistema enzimático metabolizador de drogas) hepático, aumentando, conseqüentemente, o metabolismo lipídico (MACDONALD et al., 1983).

O efeito dos flavonóides e do ácido nicotínico na redução dos lipídeos em fígados de ratos mostram as possibilidades dos seguintes mecanismos de ação:

- Aumento da atividade dos receptores de LDL.
- Aumento na conversão de colesterol em ácido cólico, quenodesoxicólico e muricólico (RIOTTOT, 1987).
- Aumento na excreção de sais biliares.

Em ratos, 70% da síntese global de colesterol provém dos intestinos (MATHÉ e LUTTON, 1984). Portanto, essa é mais uma explicação para seus níveis no fígado não se apresentarem elevados.

Na Figura 20 é demonstrado o transporte de colesterol e triacilgliceróis em humanos.



Fonte: VOET e VOET, 1993.

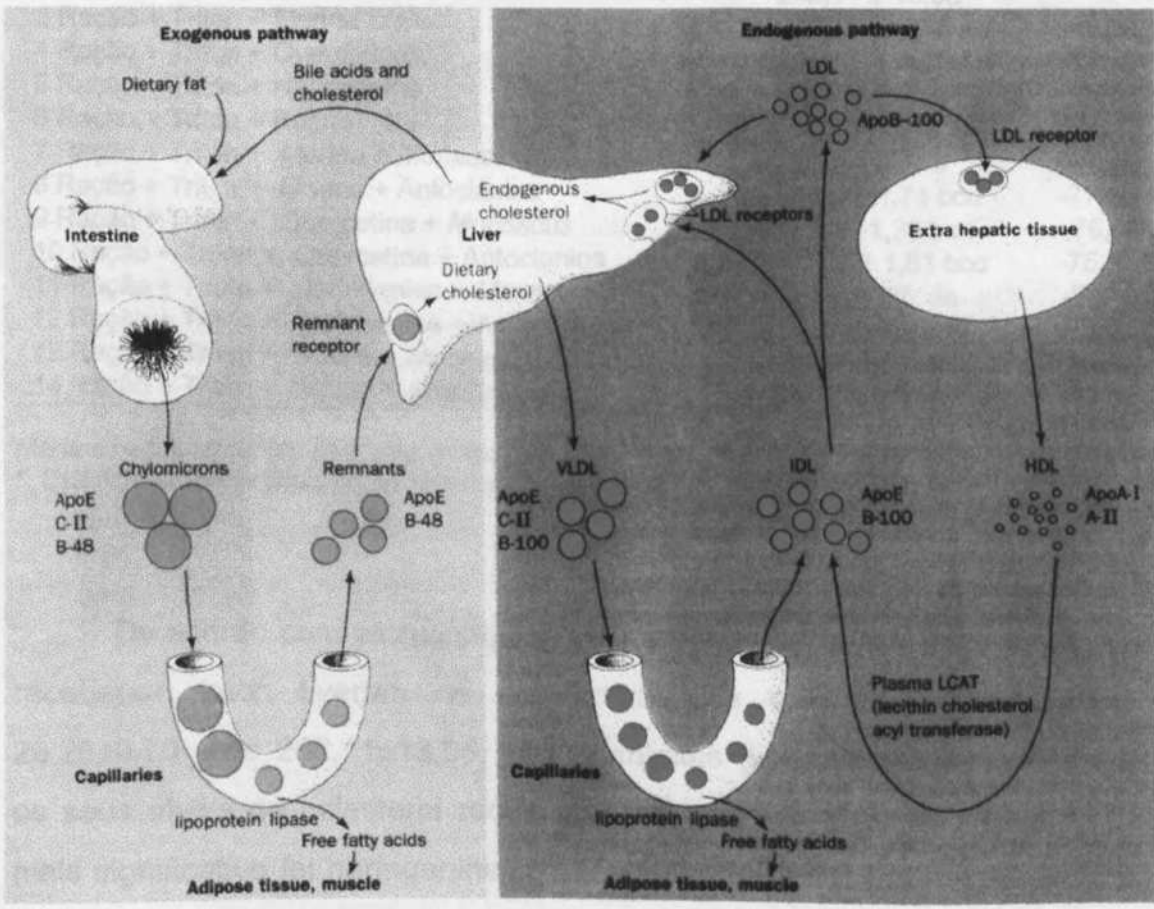
Figura 20 - Mecanismo de transporte de colesterol e triacilgliceróis em humanos.

Experimento nº 4

Nos Quadros 18, 19, 20 e 21, respectivamente, avulso de valores para o colesterol, colesterol-HDL, e triacilgliceróis de soro sanguíneo e colesterol total no fígado de ratos machos Wistar, com hiperlipidemia induzida por triton (modelo de hiperlipidemia artificial, usado para experimentos de curta duração), resultante de duas doses administradas das substâncias, por via intraperitoneal.

Quadro 18 - Média do colesterol total (± erro-padrão)

Grupo	Colesterol total (mg/100 ml)	Signif.
1 Fígado	28,36 ± 0,70	
2 Rato + Triton	29,11 ± 13,66	



Fonte: (VOET e VOET, 1995).

Figura 20 - Modelo do transporte de colesterol e triacilgliceróis em humanos.

Experimento nº 4

Nos Quadros 18, 19, 20 e 21, respectivamente, estão os valores para o colesterol, colesterol-HDL, e triacilgliceróis de soro sangüíneo e colesterol total no fígado de ratos machos Wistar, com hiperlipidemia induzida por triton (modelo de hiperlipidemia artificial, usado para experimentos de curta duração), resultante de duas doses administradas das substâncias, por via intraperitoneal.

Quadro 18 - Médias de colesterol total (\pm erro-padrão)

Grupos	Colesterol total (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	26,36 \pm 0,70	-
2 Ração + Triton	262,11 \pm 13,96	-
3 Ração + Triton + Morina	88,24 \pm 1,06 a	-66,33 *
4 Ração + Triton + Quercetina	97,27 \pm 1,52 a	-62,89 *
5 Ração + Triton + Naringenina	90,80 \pm 2,37 a	-65,36 *
6 Ração + Triton + Rutina	102,65 \pm 1,45 a	-60,84 *
7 Ração + Triton + Morina + <i>Monascus</i>	67,54 \pm 1,32 b	-74,23 *
8 Ração + Triton + Morina + Antocianina	58,85 \pm 1,74 bcd	-77,55 *
9 Ração + Triton + Quercetina + <i>Monascus</i>	65,22 \pm 1,30 bc	-75,12 *
10 Ração + Triton + Quercetina + Antocianina	64,18 \pm 1,61 bcd	-75,51 *
11 Ração + Triton + Naringenina + <i>Monascus</i>	45,63 \pm 1,47 de	-82,59 *
12 Ração + Triton + Naringenina + Antocianina	39,12 \pm 1,45 e	-85,07 *
13 Ração + Triton + Rutina + <i>Monascus</i>	47,75 \pm 0,84 cde	-81,78 *
14 Ração + Triton + Rutina + Antocianina	52,79 \pm 1,50 bcde	-79,86 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

De acordo com os resultados mostrados no Quadro 18, os animais que receberam triton tiveram os seus níveis de colesterol aumentados de 26,26 \pm 0,70 para 262,11 \pm 13,96. Esses animais hipercolesterolêmicos tiveram os seus níveis de colesterol reduzidos em todos os tratamentos, sendo que mais significativo foi naringenina e antocianina (grupo 12), com percentual de redução de 85,07%.

A literatura registra testes biológicos envolvendo a classe de compostos chamada monacolina, que atualmente vem sendo utilizada na produção do

medicamento lovastatina, muito usado no controle do colesterol (FRANCIS, 1987). Existem 38 patentes associadas com corantes *Monascus* desenvolvidos nos últimos 15 anos. As monacolininas são produzidas pelo mesmo fungo do Gênero *Monascus*, fungos estes também capazes de sintetizar o corante *Monascus*, e que, pelos ensaios deste trabalho, demonstram atividade hipolipidêmica. Diversas publicações envolvendo fungo *Monascus ruber* e produção de substâncias com atividade hipolipidêmica são citadas por ENDO (1975 e 1980); ENDO e KASUMI (1985); ENDO et al. (1985); ENDO et al. (1986a,b).

Outro aspecto a ser considerado, em relação ao uso do corante *Monascus*, é que outra espécie de fungo do gênero *Monascus*, *Monascus ruber*, produz, como resultado do seu metabolismo, monacolina K, um composto com ação hipocolesterolêmica que inibe a enzima HMG-CoA redutase (VALENTE, 1998).

No estudo com testes realizados com corantes naturais em coelhos que receberam antocianinas glicosiladas na dose de 25 mg/kg de peso corporal, foram observados efeitos diuréticos e vasodilatadores em artérias sanguíneas (POURRAT et al., 1967).

YUGARAN et al. (1992) mostraram efeito hipolipidêmico de quercetina e morina em ratos alimentados com dieta rica em gordura. Os animais tratados com esses flavonóides apresentaram redução dos níveis de colesterol total, colesterol-LDL e triacilgliceróis.

Ao se analisar o Quadro 19, observa-se, entretanto, que, para os níveis de Colesterol-HDL, os melhores resultados foram obtidos com os tratamentos no Grupo 3, uma vez que esse tratamento foi o mais adequado em elevar o nível de Colesterol-HDL para 16,06%. Esse resultado é o mais satisfatório, uma vez que o colesterol-HDL mobiliza o colesterol dos tecidos periféricos para o fígado onde é metabolizado.

Quadro 19 - Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão)

Grupos	Colesterol-HDL (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	22,36 \pm 0,70	-
2 Ração + Triton	64,20 \pm 0,18	-
3 Ração + Triton + Morina	74,51 \pm 1,52 a	+16,06 *
4 Ração + Triton + Quercetina	61,52 \pm 1,79 bcd	-4,17 *
5 Ração + Triton + Naringenina	74,38 \pm 1,65 a	+15,86 *
6 Ração + Triton + Rutina	64,45 \pm 1,19 bc	+0,39*
7 Ração + Triton + Morina + <i>Monascus</i>	54,52 \pm 1,79 ef	-15,08*
8 Ração + Triton + Morina + Antocianina	60,18 \pm 1,65 cde	-6,26 *
9 Ração + Triton + Quercetina + <i>Monascus</i>	38,66 \pm 1,71 g	-39,78*
10 Ração + Triton + Quercetina + Antocianina	38,27 \pm 1,32 g	-40,39 *
11 Ração + Triton + Naringenina + <i>Monascus</i>	47,62 \pm 1,23 de	-25,83*
12 Ração + Triton + Naringenina + Antocianina	56,39 \pm 1,45 de	-12,17 *
13 Ração + Triton + Rutina + <i>Monascus</i>	68,45 \pm 1,56 ab	+6,62**
14 Ração + Triton + Rutina + Antocianina	36,21 \pm 1,79 g	-43,60 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Quadro 20 - Médias de triacilglicerol (\pm erro-padrão)

Grupos	Triacilglicerol (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	160,68 \pm 2,68	-
2 Ração + Triton	308,90 \pm 2,82	-
3 Ração + Triton + Morina	95,59 \pm 1,80 b	-69,05 *
4 Ração + Triton + Quercetina	99,93 \pm 1,34 b	-67,65 *
5 Ração + Triton + Naringenina	69,99 \pm 1,99 cdef	-77,34 *
6 Ração + Triton + Rutina	71,48 \pm 1,29 cde	-76,86*
7 Ração + Triton + Morina + <i>Monascus</i>	62,28 \pm 1,91 f	-79,34*
8 Ração + Triton + Morina + Antocianina	76,29 \pm 1,33 c	-75,30 *
9 Ração + Triton + Quercetina + <i>Monascus</i>	65,79 \pm 1,73 ef	-78,70*
10 Ração + Triton + Quercetina + Antocianina	50,39 \pm 1,61 g	-83,69 *
11 Ração + Triton + Naringenina + <i>Monascus</i>	66,28 \pm 1,49 def	-78,54*
12 Ração + Triton + Naringenina + Antocianina	127,92 \pm 1,26 a	-58,59 *
13 Ração + Triton + Rutina + <i>Monascus</i>	98,78 \pm 1,41 b	-68,02*
14 Ração + Triton + Rutina + Antocianina	74,66 \pm 1,33 cd	-75,83 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Para os níveis de triacilgliceróis, apresentados no Quadro 20, observa-se que todos os tratamentos foram muito eficientes, sendo que o melhor tratamento foi quercetina e antocianina (grupo 10) por ter apresentado o maior percentual de redução (83,69%).

O uso de duas doses de antocianinas (40 e 80 mg/kg) misturadas à ração tiveram efeito hipolipidêmico em estudo realizado por VALENTE (1998).

Estudo envolvendo metabolismo de flavonóide mostram seus efeitos coleréticos (BOHM, 1967).

VERKMAN (1980) mostrou a habilidade de os flavonóides penetrarem na bicamada lipídica de membranas celulares.

Quadro 21 - Médias de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado

Grupos	Colesterol total (mg/dL)	% de Variação
1 Ração	50,39 \pm 3,70	-
2 Ração + Triton	106,42 \pm 5,21	-
3 Ração + Triton + Quercetina	45,46 \pm 2,77 a	-57,28 *
4 Ração + Triton + Naringenina	39,60 \pm 3,45 a	-62,79 *
5 Ração + Triton + Morina	48,23 \pm 5,03 a	-54,68 *
6 Ração + Triton + Rutina	45,61 \pm 4,89 a	-57,14 *
7 Ração + Triton + Quercetina + <i>Monascus</i>	32,91 \pm 3,69 a	-69,08 *
8 Ração + Triton + Quercetina + Antocianina	37,79 \pm 4,35 a	-64,49 *
9 Ração + Triton + Naringenina + <i>Monascus</i>	40,86 \pm 6,39 a	-61,60 *
10 Ração + Triton + Naringenina + Antocianina	42,60 \pm 5,21 a	-59,97 *
11 Ração + Triton + Morina + <i>Monascus</i>	36,71 \pm 4,67 a	-65,50 *
12 Ração + Triton + Morina + Antocianina	41,31 \pm 6,14 a	-61,18 *
13 Ração + Triton + Rutina + <i>Monascus</i>	34,26 \pm 5,17 a	-67,81 *
14 Ração + Triton + Rutina + Antocianina	28,83 \pm 4,22 a	-72,91 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

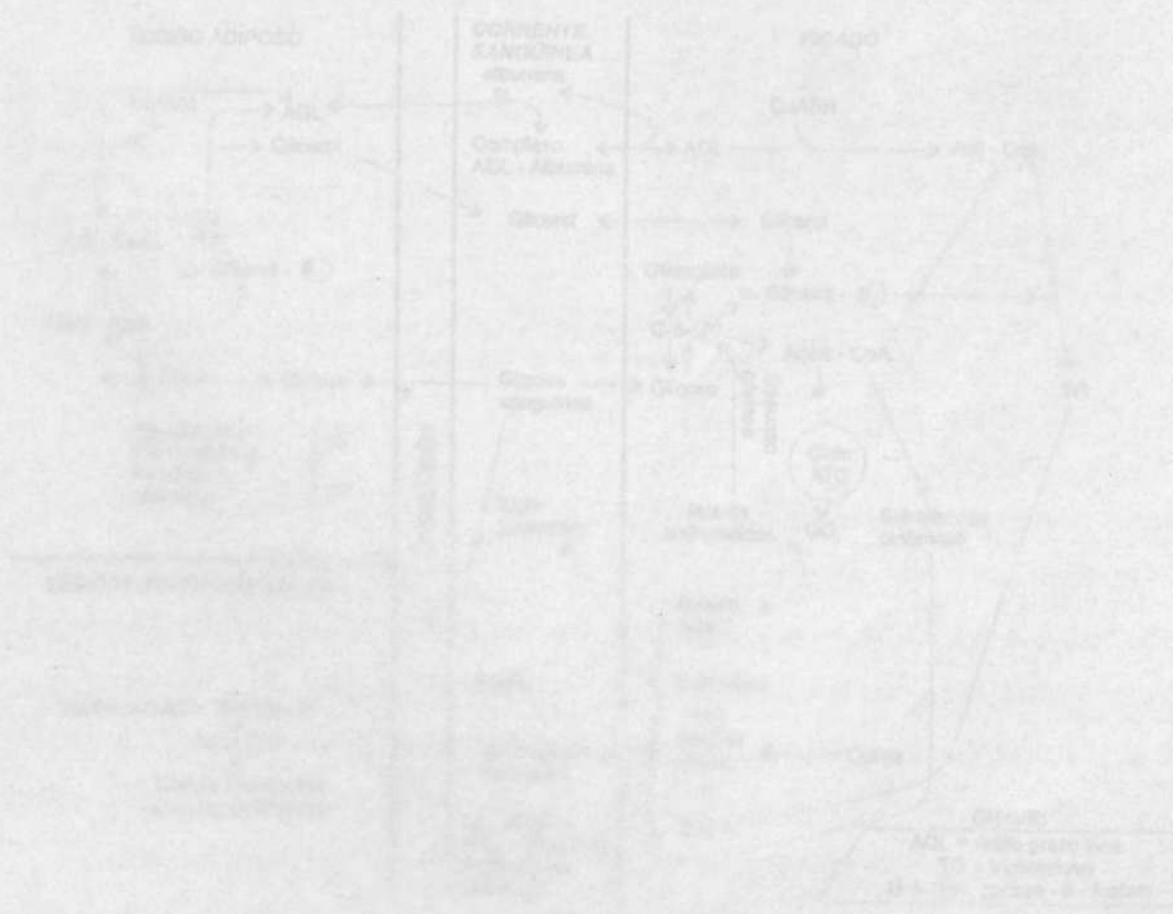
* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Todos os tratamentos foram eficientes na redução dos níveis de colesterol no fígado, interferindo de alguma forma em sua síntese ou degradação.

A ação de flavonóides interferem no mecanismo de ativação de linfócitos e na função de macrófagos. Esses fenômenos são provavelmente

causados pela habilidade de os flavonóides se ligarem a radicais livres, quelar íons metálicos, inibir enzimas que convertem o AMP_c → 5'AMP_c e também as fosfodiesterases.

A Figura 21 mostra algumas interações do fígado, tecido adiposo e outro tecido extra-hepático no metabolismo lipídico em humanos.



Fonte: [illegível]

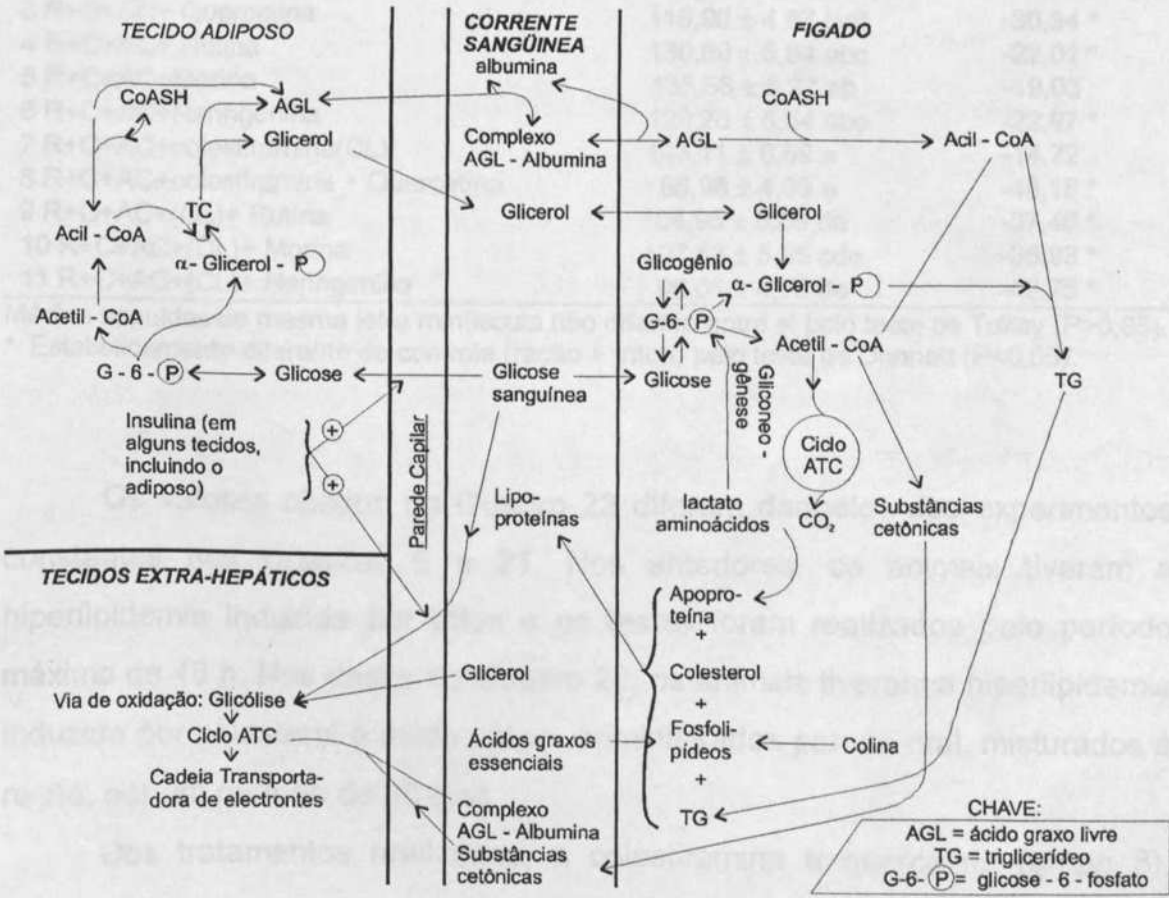
Figura 21 - Metabolismo lipídico em humanos. Algumas interações do fígado, tecido adiposo e outro tecido extra-hepático no metabolismo lipídico em humanos.

Experimento nº 6

Os valores obtidos para colesterol total, colesterol-HDL e triacilglicerol do soro sanguíneo de ratos machos Wistar, com hiperlipidemia induzida por dieta, utilizando colesterol e ácido cálcico, sendo as substâncias administradas por via oral na dieta, constam nos Quadros 22, 23 e 24.

Quadro 22 - Médias de colesterol total (mg/dl)

Grupos	Colesterol total (mg/dl)	% de Variação
1) Dieta (C)	21,50 ± 3,40	
2) Dieta (C) + Ácido cálcico (AC)	17,20 ± 4,40	



Fonte: BAGAVAN (1977).

Figura 21 - Algumas interações do fígado, tecido adiposo e de outros tecidos extra hepáticos no metabolismo lipídico.

Experimento nº 5

Os valores obtidos para colesterol total, colesterol-HDL e triacilglicerol do soro sangüíneo de ratos machos Wistar, com hiperlipidemia induzida por dieta, utilizando colesterol e ácido cólico, sendo as substâncias administradas por via oral, na dieta, constam nos Quadros 22, 23 e 24.

Quadro 22 - Médias de colesterol total (\pm erro-padrão)

Grupos	Colesterol total (mg/dL)	% de Variação
1 Ração (R)	36,54 \pm 3,90	-
2 R+ Colesterol (C) + Ácido cólico (AC)	167,82 \pm 4,49	-
3 R+C+AC+ Quercetina	116,90 \pm 4,87 bcd	-30,34 *
4 R+C+AC+ Rutina	130,89 \pm 5,84 abc	-22,01 *
5 R+C+AC+Morina	135,88 \pm 5,27 ab	-19,03
6 R+C+AC+Naringenina	129,28 \pm 5,54 abc	-22,97 *
7 R+C+AC+colestiramina(CL)	143,11 \pm 6,69 a	-14,72
8 R+C+AC+colestiramina + Quercetina	86,96 \pm 4,69 e	-48,18 *
9 R+C+AC+(CL)+ Rutina	104,95 \pm 5,09 de	-37,46 *
10 R+C+AC+(CL)+ Morina	107,53 \pm 5,95 cde	-35,93 *
11 R+C+AC+(CL)+ Naringenina	96,08 \pm 4,78 de	-42,75 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).

* Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Os valores obtidos no Quadro 22 diferem daqueles dos experimentos constantes nos Quadros 6 a 21. Nos anteriores, os animais tiveram a hiperlipidemia induzida por triton e os testes foram realizados pelo período máximo de 48 h. Nos dados do Quadro 22, os animais tiveram a hiperlipidemia induzida por colesterol e ácido cólico, administrados por via oral, misturados à ração, por um período de 30 dias.

Dos tratamentos realizados, a colestiramina e quercetina (grupo 8), apresentou maior percentagem de redução (48,18%).

As micelas são formadas pelos ácidos graxos livres, monoacilgliceróis, diacilgliceróis, triacilgliceróis e sais biliares.

Em ratos, a absorção do colesterol dietético se faz, preferencialmente, na metade distal do intestino (SIPERSTEIN, 1985). A solubilização do

colesterol em micelas é essencial para sua absorção. Quando estas desaparecem, o colesterol precipita-se, incorrendo em diminuição da taxa de absorção do colesterol, já que sua própria absorção é mais distal, permitindo maior tempo de solubilização ao longo do intestino delgado. O colesterol também é forte estimulador e co-fator da colesterol esterase, sendo, assim, adjuvante na digestão (LEITE, 1993).

Na Figura 22 é mostrada a absorção intestinal de gorduras da dieta.

A ação de flavonóides como quercetina e rutina foi capaz de disparar trombos plaquetários no tecido endotelial da aorta de coelhos, prevenindo a agregação plaquetária e reduzindo a síntese de colágeno no processo. Esse mecanismo de ação dos flavonóides está associado ao fato de eles poderem se ligar a radicais livres, aumentar a síntese de prostaciclina e inibir a peroxidação lipídica que leva à agregação plaquetária (GRYGLEWSKI et al., 1987).

Estudos também relatam que diversos flavonóides atuam ativando sistemas multi enzimáticos, tipo citocromo P450 e b5 (LASCKER et al., 1984). A ação de induzir a ativação desses complexos multienzimáticos afeta o metabolismo como um todo, já que esses sistemas estão envolvidos no metabolismo de xenobióticos, incluindo fármacos, inseticidas, poluentes, podendo ter importância crucial na farmacologia e toxicidade.

O mecanismo de ação da colestiramina como hipolipidêmica está associado à troca de ânions (íons Cl^-) pelos ácidos biliares negativamente carregados. Como as resinas não são absorvidas, o efeito final é promover a excreção de ácidos biliares. A inibição do retorno de ácidos biliares no fígado resulta em aumento na conversão de colesterol em ácidos biliares. Provavelmente, há também uma leve diminuição na reabsorção do esteroide, pela perda de ácidos biliares, bem como de esteróides neutros, levando a um aumento compensatório do número de receptores hepáticos de LDL e à indução da atividade de HMG CoA-redutase. Assim, o conteúdo de colesterol do hepatócito é restaurado pelo aumento da captação de LDL do plasma, mediado pelo aumento da expressão do receptor de LDL e pelo aumento da biossíntese de colesterol endógeno. Isso resulta tanto na diminuição dos níveis

de LDL do plasma, quanto na restauração da produção de ácidos biliares (GOODMANS, 1996).

BASCOUL et al. (1990) relatam o aumento da atividade de 7α hidroxicolesterol em soro sangüíneo de humanos, como mais um dos mecanismos de ação da colestiramina.

Quadro 23 - Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão)

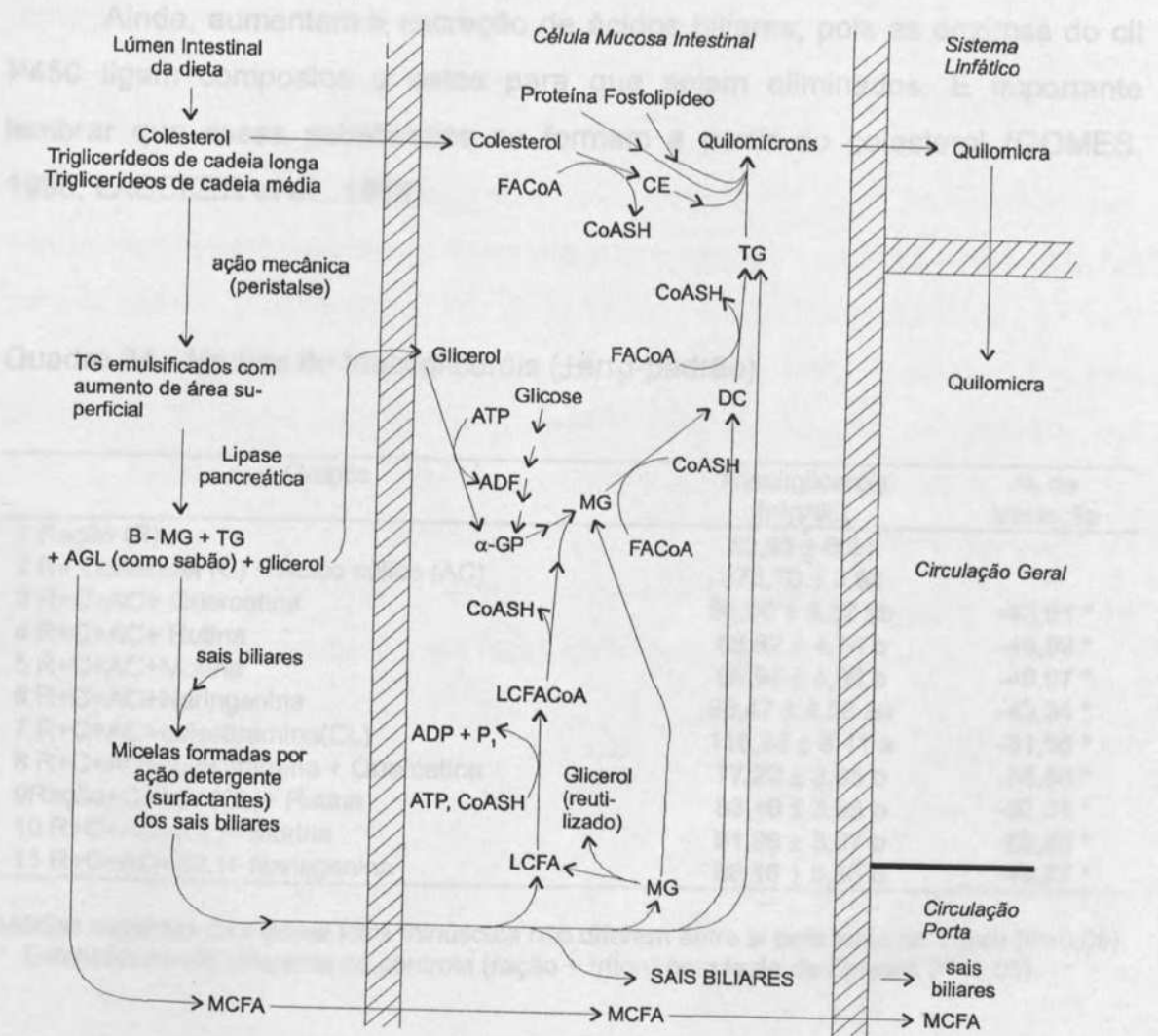
Grupos	Colesterol-HDL (mg/dL)	% de Variação
1 Ração (R)	25,18 \pm 2,27	-
2 R+ Colesterol (C) + Ácido cólico (AC)	55,70 \pm 3,29	-
3 R+C+AC+ Quercetina	50,94 \pm 2,45 ab	-8,55
4 R+C+AC+ Rutina	51,74 \pm 2,08 a	-7,11
5 R+C+AC+Morina	43,67 \pm 3,42 ab	-21,60 *
6 R+C+AC+Naringenina	53,74 \pm 4,14 a	-3,52
7 R+C+AC+colestiramina(CL)	35,71 \pm 3,64 b	-35,89 *
8 R+C+AC+colestiramina + Quercetina	53,55 \pm 4,94 a	-3,86
9 R+C+AC+(CL)+ Rutina	52,20 \pm 3,83 a	-6,28
10 R+C+AC+(CL)+ Morina	48,76 \pm 3,14 ab	-12,46
11 R+C+AC+(CL)+ Naringenina	57,76 \pm 3,78 a	+3,70

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P>0,05$).
 * Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P<0,05$).

O Quadro 24 mostra que o melhor tratamento foi colestiramina e naringenina (grupo 11), com um percentual de acréscimo de +3,70%, o que é satisfatório, porque, nesse parâmetro, quanto mais altos estiverem os níveis, melhor para o organismo animal, levando-se em consideração que o HDL é considerado o bom colesterol, tendo como função conduzir o colesterol da circulação para o fígado para ser metabolizado.

O colesterol-HDL em ratos é o principal responsável pelo transporte de colesterol aos tecidos, já que, em ratos, este e o LDL se degradam muito rapidamente, restando pequenas proporções de LDL (MATHÉ e LUTTON, 1984).

Por vários sistemas multienzimáticos, como os P450 e os CYP, as flavonóides têm possíveis efeitos no metabolismo de constituintes lipofílicos normais, no corpo, como as esteróides e os ácidos biliares, sendo bastante consideráveis os seus efeitos no metabolismo lipídico.



Abreviações:

MG = monoglicerídeo;

DG = diglicerídeo;

TG = triglicerídeo;

AGL = ácido graxo livre;

AGCL = ácido graxo de cadeia longa (14 carbonos ou mais);

AGCM = ácido graxo de cadeia média (10 carbonos ou mais);

α-GP = α-glicerolfosfato;

CE = éster de colesterol; e

AcCoA = Acil - coA.

Fonte: BAGAVAN, 1977.

Figura 22 - Absorção Intestinal de gorduras da dieta.

Por ativar sistemas multienzimáticos, como cit P450 e cit b5, os flavonóides têm possíveis efeitos no metabolismo de constituintes lipofílicos normais, no corpo, como os esteróides e os ácidos biliares, sendo bastante consideráveis os seus efeitos no metabolismo lipídico.

Ainda, aumentam a excreção de ácidos biliares, pois as enzimas do cit P450 ligam compostos a estes para que sejam eliminados. É importante lembrar que essas substâncias se formam a partir do colesterol (GOMES, 1998; LASCKER et al., 1984).

Quadro 24 - Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão)

Grupos	Triacilgliceróis (mg/dL)	% de Variação
1 Ração (R)	80,91 \pm 6,51	-
2 R+ Colesterol (C) + Ácido cólico (AC)	173,78 \pm 3,98	-
3 R+C+AC+ Quercetina	98,00 \pm 5,32 ab	-43,61 *
4 R+C+AC+ Rutina	88,82 \pm 4,74 b	-48,89 *
5 R+C+AC+Morina	86,94 \pm 4,96 b	-49,97 *
6 R+C+AC+Naringenina	98,47 \pm 4,58 ab	-43,34 *
7 R+C+AC+colestiramina(CL)	118,95 \pm 8,41 a	-31,55 *
8 R+C+AC+colestiramina + Quercetina	77,22 \pm 2,65 b	-55,56 *
9 Ração+C+AC+(CL)+ Rutina	83,40 \pm 3,88 b	-52,01 *
10 R+C+AC+(CL)+ Morina	81,98 \pm 3,67 b	-52,83 *
11 R+C+AC+(CL)+ Naringenina	88,16 \pm 5,56 b	-49,27 *

Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P > 0,05$).
 * Estatisticamente diferente do controle (ração + triton) pelo teste de Dunnett ($P < 0,05$).

Os níveis de triacilgliceróis foram reduzidos por todos os tratamentos utilizados.

A maior percentagem de redução para o nível de triacilgliceróis (55,56%) foi obtida com o tratamento colestiramina e quercetina (grupo 8).

Estudos realizados por KATO e TOSA (1983) mostram o efeito similar para o flavonóide quercetina que, adicionado à dieta durante 15 dias, resultou em decréscimo nos níveis de triacilgliceróis em ratos.

Os flavonóides podem ativar a síntese de AMP_c. Esse pode ativar a proteína quinase, enzima responsável pela ativação da lipase. Essa enzima,

por sua vez, aumenta a hidrólise dos triacilgliceróis, facilitando assim a sua redução no soro e fígado (BAGAVAN, 1977).

Além disso, GOMES (1998) relata o efeito de diversos flavonóides ativando a enzima lipase pancreática, aumentando, assim, a hidrólise de triacilgliceróis e permitindo também a sua redução.

Os flavonóides também ativam os receptores de LDL que contêm em sua estrutura 7-10% de triacilgliceróis (KIRK et al., 1998).

Enquanto a colestiramina exerce sua ação em nível da luz intestinal, seqüestrando sais biliares, os flavonóides (morina e quercetina) possivelmente contribuem na redução dos níveis de lipídeos, por agir aumentando a atividade enzimática (de cit b5 e P450) ou aumentando a excreção de colesterol e sais biliares. O efeito de sinergismo observado pela associação de colestiramina com os flavonóides pode estar associado à inibição de HMG-CoA redutase, uma vez que estudos demonstram que ocorre conseqüente redução da biossíntese de colesterol e ações, tais como aumento da excreção de colesterol e ácidos biliares pelas fezes de animais experimentais.

Investigando-se os efeitos de flavonóides associados à colestiramina, serão realizados estudos com os mesmos flavonóides associados a corantes naturais (Morina e quercetina) investigando-se os mesmos efeitos.

Verificou-se, em todos os estudos biológicos que os resultados foram bastante satisfatórios quanto aos efeitos hipolipêmicos e sinérgicos. Os três parâmetros analisados foram nível de colesterol total, colesterol HDL e triglicérides. Os resultados foram muito satisfatórios, hipolipêmicos, analisando-se ainda, colesterol total no fígado dos animais.

Os resultados foram satisfatórios com bastante êxito.

Perspectivas Futuras

Sugere-se que novas pesquisas sejam realizadas, visando novos mecanismos de ação para estas substâncias, visando também a composição sobre enzimas responsáveis pela síntese dos lipídeos.

Novos doses deverão ser testadas até se detectar as menores doses possíveis.

Os efeitos toxicológicos envolvendo toxicidade aguda, subaguda, hepatotoxicidade, mutagenicidade, efeitos carcinogênicos devem ser verificados.

Sugere-se que sejam realizados os seguintes testes em diferentes espécies animais:

- Testes envolvendo a associação flavonóides com outros medicamentos e outros corantes.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

- Testes envolvendo animais com receptores de LDL.

- Testes envolvendo animais germ-freos.

- Testes em que se realizem modificações na estrutura dos flavonóides para potencializar os seus efeitos.

Foram realizados cinco ensaios biológicos, com o objetivo de avaliar o efeito hipolipidêmico e sinérgico de flavonóides (quercetina, morina, naringenina e rutina), isoladamente e associados a medicamentos (ácido nicotínico e colestiramina), sendo ainda realizados ensaios com os mesmos flavonóides associados a corantes naturais (*Monascus* e antocianina) investigando os mesmos efeitos.

Verificou-se, em todos os ensaios biológicos, que os resultados foram bastante satisfatórios quanto aos efeitos hipolipidêmico e sinérgico. Os três parâmetros analisados foram nível de colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis, no soro sangüíneo de ratos machos Wistar, hiperlipidêmicos, analisando-se, ainda, colesterol total no fígado dos mesmos animais.

Os propósitos foram alcançados com bastante êxito.

Perspectivas Futuras

Sugere-se que novos estudos sejam realizados, verificando novos mecanismos de ação para essas substâncias, testando o efeito dos compostos sobre enzimas responsáveis pela síntese dos lipídeos.

Novas doses deverão ser testadas até se detectar as menores doses possíveis.

Os efeitos toxicológicos envolvendo toxidez aguda, subaguda, teratogenicidade, mutagenicidade, efeitos carcinogênicos devem ser verificados.

Sugere-se que sejam realizados os seguintes testes em diferentes espécies animais:

- Testes envolvendo a associação flavonóides com outros medicamentos e outros corantes.
- Testes envolvendo animais com e sem receptores de LDL.
- Testes envolvendo animais germ-free.
- Testes em que se realizem modificações na estrutura dos flavonóides para potencializar os seus efeitos.

Todos esses estudos devem ser conduzidos para que no futuro essas substâncias possam ser utilizadas como fármacos para o controle do metabolismo lipídico.

AFANAS, E.V.B., DOROSHKO, A. I., BRODOKII, A.V., KOTYUK, A., BOTAPOVIT, I. A. Cholesterol and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochemist Pharmacology*, v. 30, n. 11, p.1763 - 1769, 1989.

ARAÚJO, J.M.A. Química de alimentos: teoria e prática. Viçosa, MG, UFV, Imprensa Universitária, 1985. 335p.

BACILA, M. *Etiquetagem veterinária*. São Paulo: J.M. Varela Livros, 1980. 334p.

BAGAVAN, N. V. *Bioquímica*. Rio de Janeiro: Interciência, 1977. 519 p.

BARSHART, R. L., GUSON, R.J. JACKSON, R.L. Concentration - dependent antioxidant activity of probucol in low density lipoprotein in vitro: probucol oxidation precedes lipoprotein oxidation. *Journal Lipids Research*, v.30, p.1703 - 1710, 1989.

BARRETO, A.C.P., Ensaio clínico de avaliação de concentrações séricas de lipídios em hipercolesterolemia e meliponina. *Revista Brasileira de Cardiologia*, v.59, n.1, 1997.

BASCOUR, J., GOZÉ, D., DOMERGUE, N., CRASTES DE PAULET, A. Serum level of 7- α hydroxycholesterol in hypercholesterolemic patients treated with cholestyramine. *Biochimica et Biophysica Acta*, v.1044, n.3, p.357-360, 1990.

BOBBIO, P. A., BOBBIO, F. O. *Química de processamento de alimentos*. São Paulo: Varela, 1992, p.223.

BOCCIA, P. Conheça o inimigo: controle do colesterol. *Revista Saúde*, ed 163, p.43, abril, 1997.

BOHM, B. A. The flavonoids. In: *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Pharmacology*. Eds. MABRY, T. S. (Eds). Chapman and Hall, 1997, p.212.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOHNSACK, J.F., THAYER, A. J., LAURIE, G.W., KLEIMAN, H.K., MARTIN, G.R., BROWN, E.A. The C_{5b} subunit of the first component of complement

ABDEL-MALEK, S. Drug leads from the kallawaya herbalists of boliva 1. Background (LMA). Rationale, Potocol and Anti - HIV activity. **Journal Ethopharmacology**, v. 50, p. 157 - 166, 1996.

AFANAS, E.V.B., DOROZHKO, A. I., BRODOKII, A.V., KOTYUK, A., POTAPOVIT, I. A. Chelating and free radical scanveging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. **Biochemical Pharmacology**, v. 38, n. 11, p.1763 - 1769, 1989.

ARAÚJO, J. M.A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa, MG: UFV, Imprensa Universitária, 1995. 335p.

BACILA, M. **Bioquímica veterinária**, São Paulo: J.M. Varela Livros, 1980. 534p.

BAGAVAN, N. V. **Bioquímica**. Rio de janeiro: Interamericana, 1977. 819 p.

BARNHART, R. L., BUSCH, S.J., JACKSON, R.L. Concentration - dependent antioxidant activity of probucol in low density lipoprotein in vitro: probucol degradation preceds lipoprotein oxidation. **Journal Lipids Research**, v.30, p.1703 - 1710, 1989.

BARRETO, A.C.P., Ensaio clínico multicêntrico da pravastatina em pacientes com hipercolesterolemia e múltiplos fatores de risco. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.68, n.1, 1997.

- BASCOUL, J., GOZÉ, C., DOMERGUE, N., CRASTES DE PAULET, A. Serum level of 7 - α hydroxycholesterol in hypercholesterolemic patients treated with cholestyramine. **Biocchimica et Biophysica Acta**, v.1044, n.3, p.357 - 360,1990.
- BOBBIO, P. A., BOBBIO, F.O. **Química de processamento de alimentos**. São Paulo : Varela,1992, p.223.
- BOCCIA, P. Conheça o inimigo: controle do colesterol. **Revista Saúde**, ed 163, p.43, abril, 1997.
- BOHM, B. A. The minor flavonoids. In: HARBORNE, J.B., MABRY, T. S. (Eds), **The flavonoids advances in research**, London: Chapman and hall. 1967, p.313.
- BOHNSACK, J.F., TINNER, A. J., LAURIE, G.W., KLEIMAN, H.K., MARTIN, G.R., BROWN, E.J. The C_{1q} subunit of the first component of complement binds to laminin a mechanism for the deposition and retention of immune complexes in basement membrane. **Proceedings of National Academy Science**, v.82, p.3824 - 3828, 1985.
- BONIFACE, R., MESKULIN, M., ROBERT, L., ROBERT, A. M. Pharmacological prprieties of myrtillus antocyanosides: Correlation with result of treatment of diabetic microangiopathy. **Studies in Organic Chemistry**, v.23, p.293 - 302,1986.
- BOREL, J.P., RANDOUX, A., LE PEUCH, C., MAQUART, F. X., VALEYRE, J., **Bioquímica Dinamica**. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1989. p. 646 - 659.
- BORZELLECA, F., HALLAGAN, B. J. Safety and regulatory status of food, drugs and cosmetic color additives. In: FINLEY, J.W., ROBSON, S.F., ARMSTRONG, D.J. **Food safety assesment**. [S. l.: s.n.], 1992. p. 377.
- BRACKE, M. E., van CAUWENBERGE, R.M.L., MAREEL. M.M. inhibition effect of different flavonoids on the invasion of malignant tumor cell into embryonic chick heart in vitro. In: HELLMANN, K., ECCLES S. (Eds) **Treatment of metastases: Problems and prospects**. London: Taylor and Francis, 1985. p.339-342.
- BREWER, JR., H.B., GREGG, R.E., HOEG, J.M., FOJOS, S. - Apolipoproteins and lipoproteins in human plasma: na overview. **Clinical Chemistry**, v.3428, n.b, p.84, 1988.

- BROUILLARD, R. The in vivo expression of anthocyanin colour in plants. **Phytochemistry**, v. 22, n. 6, p.1311 - 1323, 1983.
- CH. HANSEN. Oriental colours. [S. L.], 1996. 12p (Report).
- COOK, N. C., SAMMAN, S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary source. **Journal Nutrition Biochemistry**, v.7, n.2, p.66 - 76, 1996.
- CROUSE III, J.R. Hypertriglyceridemia: A contraindication to the use of bile acid binding resin. **American Journal Of Medicine**, v.83, p.243,1987.
- DAS, N. P., RAMANATHAN, L. **Studies on flavonoids and related compounds as antioxidants**, In: ONG, A.S.H., PACKER L. (Eds.), Basel: Birkhäuser Verlag, 1992. p.295 - 306.
- DAVIGNON, J. **The American Journal of Cardiology**, v.57, p.22H - 28H,1986.
- DE ALMEIDA, E. R. **Plantas medicinais brasileiras, conhecimentos populares e científicos**. São Paulo: Hemus, 1993.
- DENKE, M.A., SEMPOS, C.T., GRUNDY, S.M. Excess body weight is an unrecognized contributor to dyslipidemia in white american woman. **Archives International Medical**, v.154, p.401,1994.
- DE WALLEY, C. V., RANKIN, S.M., HOUT, J.R.S., JESSUP, W., LEAK, D. S. Flavonoids inhibit the oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. **Biochemistry Pharmacology**, v.39, p.1743 - 1750, 1990.
- DI CARLO, G., AUTORE, G., IZZO, A. A., MIOLINO, P., DIURNO, M.V., CA, PASSO, F. Inhibition of flavonoids in mice and rat: Structure - activity relationship. **Journal Pharmacology**. v. 45, p. 1054-1059, 1992.
- DONNELLY, P. J., DERVILLA, M.X., KEENAN,P. J., PRENDEGAST, J. Isoflavonoids of *Dalbergia Ecastophyllum*. **Phytochemistry**, v.12, p. 1157 - 1161, 1973.
- DUARTE, J., PEREZ VIZCAINO, F., UTRILLA, P., JIMENEZ, J., TAMARGO, J., ZARZUELO, A. Vasodilatory effects of flavonoids in rats aortic smooth muscle: structure - activity relationship. **General Pharmacology**, v.24, p.857- 862. 1993 a.

- DUARTE, J., PEREZ VIZCAINO, F., UTRILLA, P., JIMENEZ, J., TAMARGO J., ZARZUELO, A. Vasodilatador effects of quercetin in isolated rat vascular smooth muscle. **European Journal Pharmacology**, v.239, p.1-7, 1993b.
- EISENBERG, S. High density lipoprotein metabolism. **Journal of Lipid Research**, v.25, n.10, p.1017 -1058,1984.
- ENDO A., HASUMI K. Dihidromonacolin L and and X, new metabolites those inhibit cholesterol biosynthesis. **Journal of Antibiotics**, v.38, p.3, 1985.
- ENDO, A., HASUMI, K., NEGISHI, S. Monacolins J and L new inhibitors of cholesterol biosynthesis produced by *monascus* ruber. **Journal of Antibiotics**, v.38, p.3, 1985.
- ENDO, A., HASUMI K., YAMADA A., SHIMODA R., TAKESHIMAA H. The synthesis of compaction ML - 236 B, and monacolin. **Journal of Antibiotics**, v.39, p.11, 1986 a.
- ENDO, A., KOMATA, D., SHIMADA, H. Monacolin K. a new inhibitors of cholesterol bisynthesis. **Journal of Antibiotics**, v.39, n.12, 1986 b.
- ENDO A. Monacolin K a new hypocholesterolemic agent produced by a *Monascus* species. **Journal of Antibiotics**, v. 32, p.8, 1975.
- ENDO A., Monacolin K a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hydroxy -3methylglutariyl coenzyme A reductase. **Journal of Antibiotics**, v.33, p.3, 1980.
- FERRIOLA, P. C, CODY, V., MIDDLETON, E. Protein Kinase C inhibition by flavonoids kinetic mechanism and structure - activity relationship. **Biochemical Pharmacology**, v.38, p.1617-1624, 1989.
- FINK - GREMMELS, J., LEISTNER, L. Biological effects of *Monascus purpureus*. **Fleischwurstsch**, v. 69, n.1, p 115 - 122, 1989.
- FONSECA, F. A.H., NOVAZZI, J.P., CENDOROGOLO, M.S., DUARTE, PINTO, L.E.S.A., RABELO, L.M., MARTINEZ, T.T.R. Modificações lipídicas do fibrinogênio e da agregação plaquetária induzidas pelo etofibrato. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 66, n.4, p.33-35, 1996.
- FORMICA, J. V., REGELSON, W., Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. **Food Chemistry Toxicology**, v.33, n.12, p.1061-1080, 1995.

- FRAGA, E. C., MARTIN, S.V., FERRARO, G. E., COUSSIO, J. D., BOVERIS, A. Flavonoids antioxidants evaluated by *in vitro* and *in situ* liver chemiluminescence. **Biochemical Pharmacology**, v.36, n.5, p. 717 - 720, 1987.
- FRANCIS, F.J. Lesse: known food colorants. **Food Technology**, p. 62-68, 1987.
- FRANCIS, F.J. A new group of food colorants. **Trends in food Science & Technology**, v.3, p.27 - 30, 1992.
- FRANKEL, E. N., KANNER, J., GERMANJ, B., PARKS, E., KINSELLA, J. E. Inhibition os oxidation of human low - density lipoprotein by phenolic substances in red wine. **Lancet**, v.341, p.454 - 457, 1993.
- FREUND, P.R., WASHAM, C.J. Natural colour for use in food. **Cereal Food World**, v.33, n.7, p.553 - 559, 1988.
- FRINHANI, E. **Efeito de antocianinas de uvas roxa (Enocianinas) e de antocianinas extraídas de *Trapoeiraba* (*Tradescantia pallida*) em ratos normais e diabéticos**. Viçosa, MG: UFV, 1998. 98p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- FUNCTIONAL FOODS. Designer foods, pharmafoods, nutraceuticals. [S.] Israel Goldberg, 1994. 571p.
- FURCHGOTT, T. R. E., VONHOUTTE, P. M. Endothelium derived relaxation and contracting factors. **FASEB Journal**, v.3, p.2007 - 2018, 1989.
- GABOR, M. Szent - gyorgyi and the bioflavonoids. In: CODY C., MIDDLETON JÚNIOR E., HARBORNE J.B., BERETZ A. (Eds.). **Progress in Clinical and Biological Research**. Nova York: Alan R. Less, 1988. p. 1-15.
- GLOWANIA, H. J., RAULIN, C., SWOBODA, M. The effect of camomile on wound healing - A controlled clinical experimental double - blind trial. **Z. Hautkr.** v.62, p.1262 - 1271. 1987.
- GOLDMAM, S., **Psicodinâmica das cores**. 4 ed. Porto Alegre: Simão Goldman, 1964. p.7-19.
- GOMES, S. M. **Efeitos de flavonóides no metabolismo lipídico**. Viçosa: UFV, 1998. 96p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.

GOODMANS, J.G., GILMANN, A. G., LIMBIRD, L.E. **The pharmacological basis of therapeutics**, 9 ed. London: Mac Graw - Hill Company, 1996. 1436 p.

GOODWIN, T.W., MERCER, E.I. **Introduction to plant biochemistry**. 2 ed, Oxford: Pergamon Press, 1983. 700 p.

GREENFIELD, S. M., PERNCHARD, N. A., TEARE, J. P., THOMPSON, P.P. Review article: the mode of action the aminosalicylates in inflammatory bowel disease. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v.7, p.369 - 383, 1993.

GRUNDY, S.M. Absorption and dietary cholesterol. **Annual Review of Nutrition**, v.3, p.71 - 96, 1983.

GRYGLEWSKI, J.R., KORBUT R., ROBAK J., SWIES J. On mechanism of antithrombotic action of flavonoids. **Biochemical Pharmacology**, v. 36, n.3, p.317-322, 1987.

GUIMARÃES, I. S. S. corantes naturais : os sucedâneos dos artificiais. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**. v.2, n.1, p.88- 89, 1994.

HARBORNE, J.B. **Comparative biochemistry of the flavonoids**, London: Academic Press, 1967. 383 p.

HARBORNE, J.B. **The flavonoids**. Advances in Research Science 1986. 5. ed. Chapman e hall: London. 676 p. 1994.

HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemistry Pharmacology**, v.32, p.1141-1148, 1983.

HELLER, W. FORKMANN, G. Biosynthesis. In: HARBORNE J. B.(Ed.) **The flavonoids**, London: Chapman and Hall, 1988. p. 399-425.

HERTOG, M. G. L., FESKENS, E.J.M, HOLLMAN, P.C.H., KATAN, M. B. KROMHOUT D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: The Zutphen Elderly Study. **Lancet**, v.342, p.1007-1011, 1993.

HOLLMAN, C. H. P., VRIES, J. H.M., VAN LEEUWIN, S.D., MENEGELERS, M. J. B. Absorption of dietary quercetin glycosides and healthy ielostomy volunteers. **American Journal Clinical Nutrition**, v.62, p.1276-1282, 1995.

JACKMAN, R. L., YADA, R.Y., TUNG, M.A. Anthocyanins as food colorants - A review. **Journal Food Biochemistry**, v.11, p. 201,1987.

JACOB, B. G., MÖHLER, W. O., SCHWANDT, P. Short and long term effects of lovastatin and pravastatin alone and combination with cholestiramine on serum lipids, lipoproteins and apolipoprotein in primary hypercholesterolaemia. **European Journal Pharmacology**, v.42, p.353-358, 1992.

JESSUP, W., RANKIN S. M., DE WALLEY, C.V., HOUTH, J.R.S., SCOTT, J., LEAKE, D. S. Tocopherol consumption during LDL oxidation. **Journal Biochemistry**, v.265, p.399 - 405, 1990.

JONES, D. B., SIMPSON, H.C.R., SLAUGHTER, P., LOUSLEY, S., CARTER R. D., CBBE S. M.,MANN J.I. A comparison of cholestyramine and probucol in the treatment of familial hypercholesterolaemia. **Atherosclerosis**, v.35, p.1- 7, 1984.

KAKIUCHI, S., HIROYOSHI, H. E, MEANS, A. R. **Calmodulin and intracellular Ca⁺⁺ receptors**. New York: Plenum, 1982. p.93 - 103.

KATO, N., TOSA, N. Effects of dietary quercetin on serum lipids. **Journal Agricultural Biological Chemistry**. v.47, n.9, p.2119 - 2120, 1983.

KENNETH, J., ATWAL, A. S. Flavonoids increase tissue essential fatty acids in vitamin E- deficient chicks. **Journal Nutritional Biochemistry**, v.6, p.97-103, 1995.

KESÄNIEMI Y.A. GRUNDY S M. Influence of probucol on cholesterol and lipoprotein metabolism in man. **Journal of Lipids Research**, v.25, p.780-790, 1997.

KINSELLA, J. E., FRANKEL, E., GERMAN, J.B., KANNER, J. Possible mechanisms for the protective role of anti oxidant in wine a plant foods. **Food Technology**, v.47, p.85- 89, 1993.

KIRK, A. E., SUTHERLAND, P., WANG, S. A., CHAT, A., LEBOEUF R. C., Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57 BL/6 mice but not LDL receptor - deficient mice. **Journal Nutrition**, v.128, p.954-959, 1998.

KOES, E. R., QUATTROCCHIO, F., MOL, J.N.M. The flavonoid biosynthetic pathway in plants : function and evolution. **BioEssay**, v.16, n.2, p. 123 - 132, 1994.

KÖHRLE, J., SPANK, M., CODY, V., IRMSCHER, K. PRÜCHER, H., HESCH, R. D. Characteristics of a new synthetic thyroxine antagonist. **Ann d' endocrinology**, v.47, p.58, 1986a. (Abstracts).

KÖHRLE, J., SPANK, M., ANFMKOL, K. M., CODY, C., IRMSCHER, K. KRÄMER, J.M., PRÜCHER, H., HESCH, R. D. New synthetic inhibitors of thyroid hormone metabolism. **Acta endocrinology Suppl.** v.274, p.110-111, 1986b. (Abstract).

KOLETZKO, B., KUPKE, I., WENDEL, U. Treatment of hypercholesterolemia in children and adolescents. **Acta Paediatric**, v.81, n.9, p.682-685, 1992.

KOSHUARA, J., NEICHI, T., MURATO, S., LAO FUJIMOTO, Y., TATSUMO, Y. Selective inhibition 5 - lipoxygenase by natural compounds isolated from chinese plants. *Artemisia rubripes* Nakai. **FEBS Letters**, v.158, p.41-44, 1983.

KUNZ, B., OBER, P. Wachstums und stoffwechseluntersuchungen von *Monascus purpureus*. **BioEngineering**, v.3, p.18 - 26, 1987.

LAEKEMAN, G. M., CLAYES, M., WAN GABO, P. C. R., HERMAN, A. G., VLIE TINCK, A. Cardiovascular effects of 3 - metilquercetin. **Planta Médica**, v.52, p.433, 1986.

LASCKER, J.M., HUANG, M.T., CONNEY, A.H. In vitro and in vivo: Activation of oxidative drug metabolism by flavonoids: Structural requirements for mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*. **Mutation Research**, v.54, p.297 - 309, 1984.

LAURO, G.J. A Primer on natural colours. **Cereal Foods Word**, v.36, n.11. p.927 - 982, 1991.

LEHNINGER, A.L., NELSON, D.L., COX, M.M. **Princípios da Bioquímica**. 2ª ed. São Paulo: Savier, p. 839, 1995.

LEITE, F. P. **Risco cardiovascular: fatores metabólicos e nutricionais: diagnóstico e tratamento**. São Paulo: Loyola, 1994.

- LEITE, J. I. A. **Mecanismos de ação da goma guar sobre o metabolismo de colesterol**. Belo Horizonte: UFMG. 1993. Tese (Doutorado em Bioquímica e Imunologia) Universidade Federal de Minas Gerais, 1993.
- LEWIS, R. A., AUSTIN, K. F., SOBERMAN, R. J. Leucotrienes and other products of the 5 - lipoxigenase pathway. New England. **Journal of Medicine**, v.323, p.645, 1990.
- LIACOURAS, C. A., COATES, P. M., GALLAGHER, P. R., CARTNER, A. J. Use of cholestyramine in the treatment of children with familial combined hyperlipidemia. **Journal Pediatric**, v.122, p.477-482, 1993.
- LIMA, A. O., SOARES, B. J., GRECO, J. B., GALIZZI, J., CANGAÇO, J. R. **Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica de interpretação**. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara KOOGAN, 1985. p.382.
- LIN, C. F. Isolation and cultural conditions of *Monascus sp.* for the production of pigments in a submerged culture. **Journal Fermentation Technology**, v.51, n.6, p.407 - 414, 1973.
- LINSCHER, W.G., VERGOESEN, A. J. Lipids. In: SHILS M. E., YOUNG V. R. (Eds). **Modern nutrition in health and disease**, 7 ed, Philadelphia, Lea & Febiger, 1988, p. 72 - 107.
- LUTTON, C. Dynamique du cholestérol et des acides biliaries. Aspects comparatives. **Reproduction Nutrition Development**, p.145 - 160, 1990.
- MACDONALD, I.A., MADER, J. A., BUSSARD, R. G. The role of rutin and quercetin in stimulating flavonol glycosidase activity by cultured cell-free microbial preparation of human feces and saliva. **Mutation Research**, v. 122: 95-102, 1983.
- MAGGIO, G. D. Azione della quercetina sull'andamento de alcuni processi patologici sperimentali correlat alla malattia arterioclerótica. **Rehivio italiano di Science Farmacologiche**, p.28 - 37, 1965.
- MANDAE, S., STONER, G. D. Inhibition of N - nitrosobenzyl methy lamina - induced isophageal tumorigenesis in rats by ellagic acid. **Carcinogenesis**, v.11, p.55 - 61, 1990.

- MAREEL, M, BRACKE, M. E., VANCAUWENBERGE, R. M. L., Inhibitory effect of different flavonoid on the invasion of malignant tumors cell into embryonic chick heart in vitro. In: HELLMAM K., ECCLES S. (Eds) **Treatment of metastases: problems and prospects**. London: Taylor and Francis, 1982. p. 339 - 342.
- MARTINEZ, T. L. R., LOPES, I.E.L. Lipídeos e trombose. **SOCESP**, <http://www.socesp.org.br/revista/v7n3/605.htm>. 1997.
- MASCARENHAS, J. M. O., **Uso, restrições e perspectivas dos corantes utilizados em alimentos**, Viçosa, MG: UFV, 1998. p.155. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- MATHÉ D., LUTTON C. Le Cholestérol: Aspects dynamiques et metaboliques. **Journal Physiology**, v.79, p.41- 47, 1984.
- MATHUR, K. S., SINGHAL, S. S, SHARMA, R. D. Effect of bengal gram on experimentally induced high levels of cholesterol in tissue and serum in albino rats. **Nutrition Journal**, v.84, p.201 - 204, 1964.
- MORA, A., PAYA, M., RIO, J. L., ALCARZ, M. J. Structure - activity relationships of poly methoxy flavones and other flavonoids as inhibitors of non - enzymic lipid peroxidation. **Biochemical Pharmacology**, v.40, p.793 - 797, 1990.
- MORAZZONI, P., MAGISTRETTI, M. J. Effect of *Vaccinium Myrtillus* anthocyanosides on prostacilin - like activity in rats arterial tissue. **Fitoterapia**, v.57, p.11 - 14, 1986.
- MORAZZONI, P., MAGISTRETTI, M.J. Effects of *Vaccinium myrtillus* antocyanosides on proataciclina -like activity in rats arterial tissue. **Fitoterapia**, v.57, n.1, p.11-14, 1986.
- MOREL, I., LESCOAT, G., COGREL, P., SERGENT, O., PASDELOUP, N., BRISSOT P., CILLARD, P. E., CILLARD, J. Antioxidant and iron - chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron - loaded rat hepatocyte cultures. **Biochemical Pharmacology**, v. 45, n.1, p 13-19, 1993.
- POURRAT, A., BARTOL, E. F., GORRILL, F., POMICOUR, A., TRONCHE, Y. Preparation of active and antiperoxidative flavonoid glycosides. **Pharmacological Research**, v. 2, n.1, p.33 - 35, 1987.

- MORONEY, M. A., ALCARAZ, M. J., FORDER, R. A., CAREY, F., HOULT, R. S. Selectivity of neutrophil 5 - lipoxygenase and ciclo - oxigenase inhibition by anti inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.40, p. 787 - 792, 1988.
- NAGEM, T. J., OLIVEIRA, T. T., MIRANDA, L. C. G.. Flavonoids in cultivars of soybean: **antioxidant**. **Southern Brazilian Journal of Chemistry Action**, v.1 n.1, p. 11 - 22, 1993.
- NAKAGAWA, M., KAWASHIMA, Y., UICHIAMA, M. Hipolipidemia principles of *Cicer Arretinum*, Biochanin-A and flavonometin. **Lipids**, v.11, n.3,p.243 - 246, 1975.
- NEGRE - SALVAYRE, A., SALVAYRE, R. Quercetin prevents the cytotoxicity of oxidized LDL on lymphoid cell lines. **Free Radical Biology and Medicine**, v.12, p.101 - 106, 1992.
- NISHIRO, H., NISHIRO, A., IWASHINA, A. Quercetin inhibits the action of 12 - O - tetradiconnilphorbol - 13 - acetate a tumor promoter. **Oncology**, v.41, p.120 -123, 1984.
- OLIVEIRA, L. H. No fundo do coração. **Revista Superinteressante**, Ano 11, n.9, p. 88 - 89, set. 1997.
- OLIVEIRA, T. T., NAGEM, T. J., MIRANDA, L. C. G, PAULA, V. F., TEIXEIRA M. A. Inhibitory action on aldose reductase by soybean flavonoids. **Journal Brazilian Chemistry Society**. v.8, n.3, p.211 - 213, 1997.
- OLIVEIRA, T.T. **Flavonóides: Estudo químico e bioquímico de diversas variedades de soja *Glycine max leguminosae***. Belo Horizonte: UFMG, 1994. 197p. Tese (Doutorado em Ciências - Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, 1994.
- OPIE, H. L. **Fármacos em cardiologia**. 5 ed, Editora Guanabara Koogan, 1997. 422 p.
- PALO, M. A., ADEVA, L. V., MACEDA, L. M. A study on ang - kak and its production. **Philippine Journal Science**., v.89, n1, p 1 - 19, 1960.
- POURRAT, H., BASTIO, E. P., DORIER, P., POURRAT, A., TRONCHE, P. Preparation et activité thé thérapeutique de quelques glycosides d'antohocyanes. **Chimie the thérapeutique**, v. 2, n.1, p.33 - 38, 1967.

- QUINTÃO, E., NAKANDAKARE, E. R. **Manual de referências em dislipidemias**. [S. l.: s.n.], p.106, 1992.
- RAMIRES, J.A.F., SPÓSITO, A.C., MANSUR, A. P., SOLIMENE, M.C., CHAMONE, D., LUZ, P. L., PILEGGI, F. O genfibrozil reduz níveis elevados de lipoproteína(s) em pacientes hipercolesterlêmicos. **Arquivos Brasileiros De Cardiologia**, v.68, n.4. 1997. (Resumo). <http://www.epub.org.br/abc.6804/tabr6r.htm>.
- RAMPTON, D. S., COLLINS, C. E. Tromboxanes in inflammatory bowel disease: pathogenic and therapeutic implications. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v.7, p.369 - 383, 1993.
- RESS, W.D., EVANS, B. K., RHODES, J. Treating irritable bowel syndrome with peppermint oil. **British Medical Journal**, v.2, p.835, 1979.
- REVISTA SAÚDE - Especial, (s.a.) n.1, p. 37, out. 1997.
- RIOTTOT, M. **Metabolism des acides biliaries chez le rat. Influence de la flore microbienne du tractus digestif et des glucides alimentaires**. [Doctorat d'Etat] Université Paris - Sud - Centre d'Orsay. n.3411, 1987.
- RUDNEY, H., SEXTON, R.C. Regulation of cholesterol biosynthesis. **Annual Review Nutrition**, v.6, p.245 - 272, 1986.
- SCALA, G., OPPENHEIN, J. J. Antigen preservetin by human monocytes: Evidence for stimulant processing and requirement fot interleukin -1. **Journal Immunology**, v.131, p.1160 -1166, 1983.
- SCANDINAVIAN SIMVASTATIN SURVIVAL STUDY GROUP. Randomised trial of cholesterol loering in 4,444 patenties with coronary heart disease: The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). **Lancet**, v. 344, p. 1383-1389, 1994.
- SCARTEZINI, M., LOPES, L.M. IHARA, S. S. M. Metabolismo dos lípides e lipoproteínas. In: MARTINEZ, T. L. R. **Conduas clinicas nas dislipidemias**. Belo Horizonte: Health, 1997. p.25 - 40.
- SCHARTZ, A., SUTTAN, S.L., MIDDLETON, E. Quercetin inhibition of induction and function of cytolytic T lymphocytes. **Immunopharmacology**, v.4, p.125-138, 1982.

- SCHETMAN, G., HIATT, J., HARTZ, A. Evaluation of the effectiveness of lipids - lowering therapy (bile acid sequestrants, niacin, psyllium and lovastatin) for treating hypercholesterolemia in veterans. **American Journal of Cardiology**, v.71, p.759, 1993.
- SEED, M., O'CONNOR, B., PEROMBELON, N., O' DONNELL, REAVELEY, D., KNIGHT, B.L. The effects of acid nicotinic and acipimox on lipoprotein (a) concentration and turnover. **Atherosclerosis**, v.101, p.61 - 68, 1993.
- SEO, E. K., SILVA, G. L., CHAI, H.B., CHAGWEDERA, T. E., FARNSWIRTH, N. H., CORDELL, G. A. Cytotoxic prenylated flavanones from *Monotes engleri*, **Phytochemistry**, v.45, n.3, p.509-515, 1997.
- SFAKIANOS, J., COWARD, L., KIRK, M., BARNES, S. Intestinal Uptake and Biliary excretion of the isoflavone genistein in rats. **Journal Nutritional**, v.127, p.1260 - 1268, 1997.
- SHARMA, R. D. Effects of various isoflavones on lipids in triton treated rats. **Atherosclerosis**, v.33, p.371 - 375, 1979.
- SHROTT, H.G., STEIN, E.A., DUJOUNE, C.A., GORIS, G.B. OLIPHANT, T.H., PHILLIPS, J.C., SHAWARYN, G.G. Enhanced low - density lipoprotein cholesterol reduction and cost effectiveness by low - dose colestipol combination therapy. **American Journal of Cardiology**, v.75, p.34, 1975.
- SHUGAR, J., KAO, J. Effects of ellagic and caffeic acid on covalent binding of benzo(a) pyrene to epidermal DNA of mouse skin in organ culture. **International Journal Biochemistry**, v.16, p. 571-573, 1984.
- SILVA, S. R. Estabilidade de extrato antociânico de frutos de maria preta (*Solanum americanum*, Mill), utilizando-se diferentes concentrações de glicose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 15, 1996. Poços de Caldas: **Resumos...** Poços de Caldas, MG:[S.n.], 1996. p 245.
- SIMÕES, C. M. Anti inflammatory action of achyroline satureoides extracts applied topically. **Fitoterapia**, v.59, n.5, p.419-421, 1988.
- SIPERSTEIN, M. D. Role of cholesterologenesis and isoprenoids synthesis in DNA replications and cell growth. **Journal Lipids Research**. v.24, p.1462 - 1468, 1985.

SPARKS, C. E., MARSH, J.B. Metabolic heterogeneity of apoprotein B in the rat. **Journal Lipid Research**, v.22, p.519 -527. 1981.

STRACK, D., WRAY, V. Anthocianins. **Methods in plant biochemistry**. Academic Press, 1989, p.325 -356.

STRAVIC, B., MATULA, T.I.. **Flavonoids in foods**: their significance for nutrition and health. In: ONG, A. S. H., P., LESTER (Eds), Basel: berjhänsler Verlag, 1992. p. 274-294.

STRINGHETA, P. C. Antocianinas - estudos de novas fontes. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v.1, n.1, p.188 - 193, 1992.

STRINGUETA, P.C. **Identificação da estrutura e estudo da estabilidade das antocianinas extraídas da inflorescência de capim gordura (*Melanis minutiflora*, Pal de Beauv)** Campinas: UNICAMP, 1991, p.193, Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - UNICAMP, 1991.

STRYER, L. **Biochemistry**. 4. ed. New York: W.H. Freeman and Company, 1995. 1064 p.

STUDY shows atorvastatin most effective product for lowering cholesterol. <http://www.psgroup.com/dg/3F11E.htm>, 1997.

SWAIN, T. The evolution of flavonoids. In: CODY C., MIDDLETON JÚNIOR E., HARBORNE, J.B. **Progress In Clinical And Biological Research**. New York: Alan R. Liss, p.1 - 14. 1986.

TADDEI, L., GIACHETTI, D., TADDEI, E., MANTOVANI, P., BIANCHI, E. Spasmolytic activity of peppermint, sage, and rosimary essences and their major constituents. **Fitoterapia**, v.59, p. 463 - 468, 1988.

TAWARA, K., TOMIKAWA, M, ABIKO, Y. Mode of action of probucol in reducing serum cholesterol in mice. **Japanese Journal Pharmacological**, v.40, p.123 - 133, 1986.

TIMBERLAKE, C. F., BRIDLE, P. Antocyanins. In: WALFORD J. (Ed.) **Developments in food colours**. London: Applied Science, 1980. p.149.

- TIMBERLAKE, C.F., HENRY B. S. Antocyanins as natural food colorants. In: CODY, V., MIDDLETON, E., HARBORNE, J., BERETZ, A. **Progress in clinic and biological research..** Plant flavonoids in biology and medicinal proprieties, New York : Alan R. Liss, 1988, v.289, p107-121 (Progress in Clinical And Biological Research, 280).
- TONSTAD, S., OSE, L., BORBITZ, HARROSON, E.M., GANS, H.J.K., Effectiviness of low - dose lovastatin combined with low - dose colestipol in moderat to severe primary hypercholesterolaemia. **Scandinavian Clinical Investigation**, v. 53, p.457, 1993.
- VALENTE, S.T.X. **Efeito dos corante naturais nos níveis lipídicos de colesterol e triacolgliceróis sérico em ratos hiperlipidêmicos**, Viçosa, MG: UFV, 1998. p.102. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- VARMA, S.D. Inhibition of aldose reductase by flavonoids:possible attenuation of diabetic complication. In: CODY, C., MIDDLETON JÚNIOR E., HARBORNE, J.B. **Progress In Clinical And Biological Research.** New York: Alan R. Liss, 1986. p. 343 - 358.
- VERKMAN, F. S. The quenhing of Na intramembrane fluorecent probe: A method to study the binding and permeation of phoretin through biliayres. **Biochemistry Biophysical Acta**, v.5998, p. 370-379, 1980.
- VOET D., VOET J.G. **Biochemistry**, 2 ed., New York: John Wiley Sons. 1995.
- WEITZ, J. H. Plantas da Amazônia e seu aproveitamento tecnológico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CORANTES NATURAIS, 2: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE URUCUM,1994, Belém. **Anais...**Belém : EMBRAPA - CPATU, 1994, p 2-9.
- WEY, J. Y. Focus on... Preventing heart disease. **Medical Sciences Bulletin**, n.238, p.12 - 15, 1997.
- WONG, H.C., BAU, Y. S. Pigmentation and antibacterial activity of fast neutron and X - ray induced strains of *Monascus purpureus* went. **Plant Physiology**, v.60, p.578 - 581, 1997.
- WONG, H.C., KOEHLER, P.E. Production and isolation of an antibiotic from *Monascus purpureus* and its relationship to pigment production. **Journal Food Science**, v.46, p.589 - 592, 1981.

YASUKAWA, K., TAKIDO, M. A flavonol aglicoside from *Lysimadria mauritiana*. **Phytochemistry**, v.26, p.1224 - 1226, 1987.

YESHURUNA, D., GOTTO, A.M. Hyperlipidemia: Perspectives in diagnosis and treatment. **Southern Medical Journal**, v. 88, p.379 - 391, 1995.

YOSHIMOTO, T., FURUKAWA, M., YAMAMOTO, S., HORIE, T. and WATANABE - KOHNO S. Flavonoids: potent inhibitors of arachidonato 5 - lipoxygenase. **Biochemical and Biophysical Research communications**, v.116, p.612-618, 1993

YOUNG, V.M., WAGNER, B.M., SPIRIS, D. A. Tachyphylaxis in 12-tetradecanoylphorbol acetato and arachidonic acid - induced ear edema. **Investigation Dermatology**, v.80, p.48 - 52, 1983.

YUGARAN, T., TAN, B.K., DAS, D.Y. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profile of rats fed high fat diets. **Lipids**, v.27, p.181- 186, 1992.