

KELLY FABIANE SANTOS RICARDO

EFEITOS HIPOLIPIDÊMICO E SINÉRGICO DE FLAVONÓIDES, CORANTES
NATURAIS E FÁRMACOS

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Curso de Agroquímica, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

T
574.19293
R 488^e
J999
ex. 1.


BIBLIOTECA CENTRAL
- UFV - #
142.010
24-05-99

VIÇOSA - MINAS GERAIS
MARÇO - 1999

DOAÇÃO

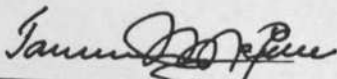
KELLY FABIANE SANTOS RICARDO

EFEITOS HIPOLIPIDÊMICO E SINÉRGICO DE FLAVONÓIDES, CORANTES
NATURAIS E FÁRMACOS

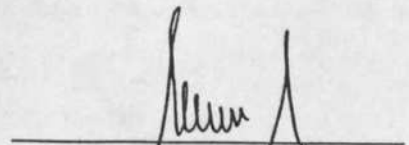
UFV	BIBLIOTECA	BBT	OBRA	RG000797931
CLASSIFICADO T 574.19293 / R488E / 1999				
TÍTULO Efeitos hipolipidêmico e sinérgico de flav				
				
142010 BBT				

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Agroquímica, para obtenção do título de Magister Scientiae.

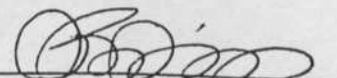
APROVADA: 04 de dezembro de 1998.



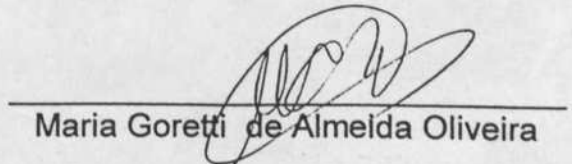
Tanus Jorge Nagem
(Conselheiro)



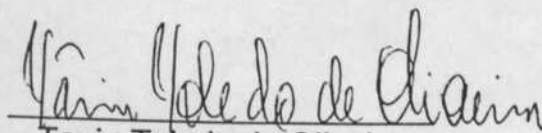
Paulo Cesar Stringheta
(Conselheiro)



Aloisio da Silva Pinto



Maria Goretti de Almeida Oliveira



Tania Toledo de Oliveira
Orientadora

AGRADECIMENTO

À minha mãe, exemplo de amor, caráter, perseverança, força espiritual e coragem para enfrentar todos os obstáculos que a vida lhe impôs. Dedico.

Ao meu irmão Ricardo, com quem o tempo não nos permitiu compartilhar as boas coisas da vida, a certeza de que sua existência sempre foi motivo de alegria para nós e de que um dia haveremos de nos encontrar. SAUDADES...

A minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Tania Toledo de Oliveira, pela orientação, pela confiança na minha capacidade profissional, pelo apoio, pela amizade, pelos inúmeros finais de semana trabalhando comigo, para enriquecer meus conhecimentos e por sempre estar disponível para me atender.

Ao Prof. Terez Jorga Nagam, primeiro professor com quem trabalhei no âmbito de pesquisa, pelas sugestões sempre construtivas, pelos ensinamentos, pela dedicação, pelo dinamismo e entusiasmo constantes.

Ao Prof. Alvaro da Silva Pinto, presente em todas as experiências, pelas aulas práticas, pelos princípios da Farmacologia, pelas críticas construtivas aos ensaios biológicos, pelo sempre disponível para esclarecer e ajudar, demonstrando inúmeras e carinhosas maneiras para resolver as dificuldades.

AGRADECIMENTO

A Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, pelo exemplo de honestidade, perseverança e por sempre confiarem em mim.

Aos meus irmãos, em especial, a Enilsa, Merivaldo e Alzemar, pelo apoio e incentivo sempre constantes.

À minha irmã Ilma, por ter-me incentivado desde cedo a estudar, e por ter-me encaminhado à UFV, o meu sincero agradecimento.

À minha orientadora, Prof^a Dr^a Tania Toledo de Oliveira, pela orientação, pela confiança na minha capacidade profissional, pelo apoio, pela amizade, pelos inúmeros finais de semanas trabalhando comigo, para enriquecer meus conhecimentos e por sempre estar disponível para me atender.

Ao Prof. Tanus Jorge Nagem, primeiro professor com quem trabalhei no grupo de pesquisa, pelas sugestões sempre construtivas, pelos ensinamentos, pela dedicação, pelo dinamismo e entusiasmo constantes.

Ao Prof. Aloisio da Silva Pinto, presente em todos os experimentos, ensinando pacientemente os princípios da Farmacologia, pelas críticas construtivas aos ensaios biológicos, pela correção dos trabalhos para publicação e da tese, demonstrando imensa e constante disponibilidade para me auxiliar.

Aos Professores Maria Goretti de Almeida Oliveira e Paulo César Stringheta, pelas críticas construtivas e pelo apoio.

À Coordenação da Pós Graduação, em especial à Prof^a Elizabete Pacheco Batista Fontes, pela dedicação ao Curso de Mestrado.

À FAPEMIG, pelo financiamento do projeto e pela bolsa de estudo concedidos.

Ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, principalmente à Prof^a Maria Goretti de Almeida Oliveira, pelo empenho.

Ao Departamento de Nutrição e Saúde, pela concessão dos animais utilizados nos experimentos e pelo acesso ao Laboratório de Nutrição Experimental.

À Prof^a Conceição A. dos Santos Pereira e aos técnicos Maria José de Sá Lessa (D. Zezinha) e Ricardo Antonucci, pelo auxílio e pela boa vontade em ajudar-me.

Aos Professores Alice Jham, Carlos Farias, Antonio Jacinto Demuner, George Kling, Maria Goretti de Almeida Oliveira, Maurilio Alves Moreira e Tania Toledo de Oliveira, pelos cursos ministrados, pelo exemplo e pela experiência transmitidos.

A Sérgio Fernandes, pelo carinho e por ouvir pacientemente todas as minhas reclamações; pelos momentos alegres compartilhados, e pelo apoio nos momentos mais difíceis.

Aos Colegas do Laboratório de Bioquímica, Marley, Marco Antônio, Ana Paula, Alexandre, Martinha, Wander, Leonardo e Marília, pelo auxílio na condução dos experimentos, e pela amizade.

Aos colegas da Pós-Graduação, Angélica, Marcelo, Cristiano, Cândida, Paula, Letícia e, em especial, a Francine, pela grande amizade que nos une.

A Luzia e Angelo, pela amizade, pelo apoio e incentivo nos momentos mais difíceis, e pelos momentos de extrema alegria.

Aos amigos sempre presentes, Rayane, Bruno, Holdai, Guilherme, Rita, Sônia, Alvanize, Silvia, Marcio, Marcia, Marcelo e a minhas amigas, companheiras de república, Cida Fontes, Lucinete, Simone e Elisa, pelo companheirismo e pela amizade.

À Família Camini, pelo exemplo de união e amor, e por sempre me receber como uma filha, em especial ao Senhor Antonio D. Camini (*in memoriam*).

A Silvana, que realizou as análises estatísticas, pela paciência, pelas palavras de incentivo e pelo apoio.

BIOGRAFIA

KELLY FABIANE SANTOS RICARDO, filha de Estelino Ricardo da Silva e Iraci Santos Ricardo, natural de Vitória, ES, nasceu em 09 de setembro de 1973.

Bacharelou-se em Química pela Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, MG), em 27 de setembro de 1995.

Iniciou o Curso de Mestrado em Agroquímica, na Universidade Federal de Viçosa, em março de 1997, defendendo tese em 04 de dezembro de 1998.

BIOGRAFIA

KELLY FABIANE SANTOS RICARDO, filha de Enedino Ricardo da Silva e Iraci Santos Ricardo, natural de Vitória, ES, nasceu em 09 de setembro de 1973.

Bacharelou-se em Química pela Universidade Federal de Viçosa (Viçosa, MG), em 27 de setembro de 1996.

Iniciou o Curso de Mestrado em Agroquímica, na Universidade Federal de Viçosa, em março de 1997, defendendo tese em 04 de dezembro de 1998.

2.1.1. Propriedades físico-químicas	4
2.1.2. Propriedades biológicas	5
2.2. Metabolismo do colesterol	5
2.3. Transporte de lipídios	12
2.4. Lipoproteínas	12
2.4.1. Quilomícrons (QM)	16
2.4.2. VLDL (lipoproteína de densidade muito baixa)	16
2.4.3. IDL (lipoproteína de densidade intermediária)	16
2.4.4. LDL (lipoproteína de baixa densidade)	17
2.4.5. HDL (lipoproteína de alta densidade)	17
2.5. Destino do colesterol	18
2.6. Níveis considerados normais de lipídios no soro sanguíneo	19
2.7. Métodos de separação	21

2.8. Via de eliminação do colesterol.....	21
2.9. Substâncias testadas no controle do colesterol.....	24
2.9.1. Flavonóides.....	24
2.9.2. Propriedades biológicas e farmacológicas de flavonóides.....	27
2.10. Medicamentos usados no controle do colesterol.....	45
2.10.1. Efeitos de fármacos no controle do metabolismo lipídico.....	45
2.10.2. Estatinas.....	46
2.10.3. Fibratos.....	47
2.10.4. Probucol.....	48
2.10.5. Colestiramina.....	53
2.10.6. Ácido nicotínico.....	56
2.11. Corantes naturais.....	56
2.11.1. Os corantes utilizados.....	59
LISTA DE QUADROS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	xi
EXTRATO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Propriedades do colesterol.....	4
2.1.1. Propriedades físico-químicas.....	4
2.1.2. Propriedades biológicas.....	5
2.2. Biossíntese do colesterol.....	5
2.3. Transporte de lipídeos.....	12
2.4. Apolipoproteínas.....	12
2.4.1. Quilomícrons (QM).....	16
2.4.2. VLDL (lipoproteína de densidade muito baixa).....	16
2.4.3. IDL (lipoproteína de densidade intermediária).....	16
2.4.4. LDL (lipoproteína de baixa densidade).....	17
2.4.5. HDL (lipoproteína de alta densidade).....	17
2.5. Destino do colesterol.....	18
2.6. Níveis considerados normais de lipídeos na corrente sangüínea.....	19
2.7. Métodos de separação.....	21

CONTEÚDO

2.8. Vias de eliminação do colesterol.....	21
2.9. Substâncias testadas no controle do colesterol.....	24
2.9.1. Flavonóides	24
2.9.2. Propriedades biológicas e farmacológicas de flavonóides.....	27
2.10. Medicamentos usados no controle do colesterol	45
2.10.1. Efeitos de fármacos no controle do metabolismo lipídico.....	45
2.10.2. Estatinas	46
2.10.3. Fibratos.....	47
2.10.4. Probucol	48
2.10.5. Colestiramina.....	53
2.10.6. Ácido nicotínico	56
2.11. Corantes naturais.....	58
2.11.1. Os corantes utilizados	59
2.11.1.1. Monascus.....	59
2.11.1.2. Antocianina	63
3. MATERIAIS E MÉTODOS	66
3.1. Origem e alojamento dos animais.....	66
3.2. Delineamento experimental.....	67
3.3. Corantes naturais testados	67
3.4. Flavonóides testados	68
3.5. Medicamentos testados	68
3.6. Experimentos conduzidos	69
3.7. Estruturas de todos os compostos testados.....	75
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	79
5. RESUMO E CONCLUSÕES.....	110
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	112

16	Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão).....	93
17	Médias de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado.....	95
18	Médias de colesterol total (\pm erro-padrão).....	98
19	Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão).....	100
20	Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão).....	100
21	Médias de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado.....	101
22	Médias de colesterol total (\pm erro-padrão).....	104
23	Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão).....	106
24	Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão).....	108

LISTA DE QUADROS

1	Principais funções das Apo-LP, local de produção e composição nas LP.....	13
2	Constituição das lipoproteínas.....	18
3	Alterações causadas por colestiramina nos lipídeos plasmáticos.....	54
4	Reduções atingidas pelo ácido nicotínico nos lipídeos plasmáticos.....	57
5	Estruturas de antocianinas mais comuns.....	64
6	Médias de colesterol (\pm erro-padrão).....	79
7	Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão).....	81
8	Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão).....	82
9	Médias de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado.....	84
10	Médias de colesterol (\pm erro-padrão).....	86
11	Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão).....	87
12	Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão).....	88
13	Valores médios de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado.....	88
14	Médias de colesterol (\pm erro-padrão).....	89
15	Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão).....	92

16	Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão).....	93
17	Médias de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado.....	95
18	Médias de colesterol total (\pm erro-padrão)	98
19	Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão)	100
20	Médias de triacilglicerol (\pm erro-padrão).....	100
21	Médias de colesterol total (\pm erro-padrão) no fígado.....	101
22	Médias de colesterol total (\pm erro-padrão)	104
23	Médias de colesterol-HDL (\pm erro-padrão)	106
24	Médias de triacilgliceróis (\pm erro-padrão)	108

1	Formação da placa aterosclerótica.....	3
2	Biossíntese do colesterol.....	8
3	Regulação da síntese do colesterol.....	11
4	Transporte do colesterol.....	16
5	Ilustração da molécula de LDL.....	17
6	Limites das lipoproteínas em mg/dl, em humanos.....	20
7	Formação e deposição dos sais biliares (ácidos biliares).....	22
8	Mecanismo do metabolismo de fosfolípídeos e ácido araquidônico.....	30
9	Formação de leucotrienos - HPETE-Hidroperóxidos.....	44
10	Mecanismo de ação das resinas sequestrantes de ácidos biliares nos lipídios plasmáticos.....	54
11	Mecanismo de ação do ácido nicotínico.....	57
12	Estruturas dos pigmentos produzidos por fungos do género <i>Mucor</i>	61
13	Detalhes onde os ácidos permanecem durante os experimentos.....	67
14	Ácidos sendo produzidos por <i>M. vaughanii</i>	70
15	Ácidos sendo produzidos.....	71
16	Mecanismo de ação do ácido nicotínico e dos fibratos.....	80

17	Receptores de LDL mediando a endocitose em células de mamíferos.....	85
18	Geração e disposição do ácido araquidônico.....	91
19	Regulação hormonal da lipólise do tecido adiposo.....	94
20	Modelo do transporte de colesterol e triacilgliceróis em tumores.....	97
21	Algumas interações do fígado, tecido adiposo e de outros tecidos extra hepáticos no metabolismo lipídico.....	103
22	Absorção intestinal de xaropes de dieta.....	107

LISTA DE FIGURAS

1	Formação da placa aterosclerótica.....	3
2	Biossíntese do colesterol.....	9
3	Regulação da síntese do colesterol.....	11
4	Transporte do colesterol.....	15
5	Ilustração da molécula de LDL.....	17
6	Limites das lipoproteínas em mg/dL, em humanos.....	20
7	Formação e deposição dos sais biliares (ácidos biliares).....	22
8	Modelo do metabolismo de fosfolipídeos e ácido araquidônico.....	35
9	Formação de leucotrienos - HPETE-Hidroperóxidos.....	44
10	Mecanismo de ação das resinas seqüestrantes de ácidos biliares nos lipídeos plasmáticos.....	54
11	Mecanismo de ação do ácido nicotínico.....	57
12	Estruturas dos pigmentos produzidos por fungos do gênero <i>Monascus</i>	61
13	Gaiolas onde os animais permaneceram durante os experimentos.....	67
14	Animal sendo anestesiado por via inalatória.....	70
15	Animais sendo sacrificados.....	71
16	Mecanismo de ação do ácido nicotínico e dos fibratos.....	80

17	Receptores de LDL mediando a endocitose em células de mamíferos.....	85
18	Geração e disposição do ácido araquidônico.....	91
19	Regulação hormonal da lipólise do tecido adiposo.....	94
20	Modelo do transporte de colesterol e triacilgliceróis em humanos.....	97
21	Algumas interações do fígado, tecido adiposo e de outros tecidos extra hepáticos no metabolismo lipídico.....	103
22	Absorção Intestinal de gorduras da dieta.....	107

EXTRATO

SANTOS, Kelly Fabiana Ricardo, M.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 1999. Efeito hipolipidêmico e sinérgico de flavonóides, corantes naturais e fármacos. Orientadora: Tania Toledo de Oliveira. Coorientadores: Tânia Jorge Nagem e Paulo César Sifingheia.

As propriedades biológicas dos flavonóides estão sendo muito exploradas, por possuírem aplicações em diversas áreas, tais como: Bioquímica, Química, Indústria de Alimentos, Ecologia, Entomologia, Fitopatologia, Fisiologia Vegetal e Microbiologia. Alguns cientistas têm concentrado suas pesquisas na área médica, visando a uma infinidade de ações nos diversos sistemas, sejam eles cardiovasculares, imunológico, reprodutor, hormonal ou muscular. Desenvolveram-se quatro experimentos tendo sido as substâncias administradas por via intraperitoneal ou via oral a ratos machos Wistar hiperlipidêmicos (induzida por litúrio), usando-se os flavonóides (mirina, quercetina, narirutina, mirina) e os medicamentos (ácido nicotínico, colestiramina) e os corantes naturais (antocianina, licopeno) na dose 5,0 mg/kg de peso corporal. No experimento 5, as substâncias foram administradas por via oral na ração nas seguintes doses: colestiramina 10 mg; flavonóides 50 mg; hiperlipidemia induzida por colestirina, 1%; e ácido nicotínico, 0,1%. Foram determinados colesterol total, LDL-colesterol e triacilgliceróis

EXTRATO

SANTOS, Kelly Fabiane Ricardo. M.S., Universidade Federal de Viçosa, março de 1999. **Efeitos hipolipidêmico e sinérgico de flavonóides, corantes naturais e fármacos.** Orientadora: Tania Toledo de Oliveira. Conselheiros: Tanus Jorge Nagem e Paulo César Stringheta.

As propriedades biológicas dos flavonóides estão sendo muito exploradas, por possuírem aplicações em diversas áreas, tais como: Bioquímica, Química, Indústria de Alimentos, Ecologia, Entomologia, Fitopatologia, Fisiologia Vegetal e Microbiologia. Alguns cientistas têm concentrado suas pesquisas na área médica, visando a uma infinidade de ações nos diversos sistemas, sejam eles cardiovasculares, imunológico, reprodutor, hormonal ou muscular. Desenvolveram-se quatro experimentos, tendo sido as substâncias administradas por via intraperitoneal ou via oral a ratos machos Wistar hiperlipidêmicos (induzida por triton), usando-se os flavonóides (morina, quercetina, naringenina, rutina); e os medicamentos (ácido nicotínico, colestiramina) e os corantes naturais (antocianina, *Monascus*) na dose 5,0 mg/kg de peso corporal. No experimento 5, as substâncias foram administradas por via oral, na ração, nas seguintes doses: colestiramina, 10 mg; flavonóides, 30 mg; hiperlipidemia, induzida por colesterol, 1%; e ácido cólico, 0,1%. Foram determinados colesterol, colesterol-HDL e triacilgliceróis

em todos os experimentos. Nos experimentos em que se administraram duas doses das substâncias, por via intraperitoneal, encontraram-se melhores efeitos, quando comparados aos experimentos em que foi administrada uma dose das substâncias pela mesma via. Quando os flavonóides foram administrados isoladamente ou associados a corantes naturais, foram observados efeitos hipolipidêmico e sinérgico. No experimento em que a hiperlipidemia foi induzida por dieta, contendo colesterol e ácido cólico, os flavonóides, a colestiramina e as suas associações foram administrados por via oral (misturados à ração), constatando-se efeito hipolipidêmico e sinérgico em todos os tratamentos. Por fim, nas análises de fígado dos mesmos animais, onde foi determinado o colesterol, constatou-se um decréscimo acentuado para os experimentos realizados. Concluiu-se, dessa forma, que as substâncias testadas (flavonóides, medicamentos e corantes) possuem efeito hipolipidêmico e sinérgico, quando administradas por via intraperitoneal e oral em ratos machos Wistar.

ABSTRACT

SANTOS, Kelly Fabiane Ricardo. M.S., Universidade Federal de Viçosa, March, 1999. **Synergic and hypolipidemic effects of flavonoids, natural and pharmaceutical dyes.** Adviser: Tania Toledo de Oliveira. Committee members: Tanus Jorge Nagem and Paulo César Stringheta.

The biological properties of flavonoids have been largely explored for they can be applied on several areas such as: Biochemistry, Chemistry, Food Industry, Ecology, Entomology, Phytopathology, Vegetal Physiology and Microbiology. Some scientists' researches have been focused on medical area involving an infinity of actions upon several systems (cardiovascular, immune, reproducer, hormone or muscular). Four experiments were carried out with substances administered by either intraperitoneal or oral via to male hyperlipidemic Wistar mice (triton-induced), and the flavonoids (morin, quercetin, naringenin, rutin), medicines (nicotinic acid, cholestyramine) and natural dyes (anthocyanin, *Monascus*) being added at 5.0 mg/kg of body weight. In experiment 5, the substances were orally administered through ration at the following doses: 10 mg of cholestyramine; 30 mg of flavonoids; hyperlipidemy induced by 1% cholesterol; and 0.1% cholic acid. Cholesterol, HDL-cholesterol and triacylglycerols were determined for all experiments. The experiments in which two doses of each substance were administered through

intraperitoneal via showed better effects when compared to those in which just one dose of each substance was added through the same via. Synergic and hypolipidemic effects were observed when administering the flavonoids isolated or associated to natural dyes. In the experiment where hyperlipidemy was induced by diet containing both cholesterol and cholic acid, the flavonoids, cholestyramine and their associations were administered through oral via (mixed with ration), with synergic and hypolipidemic effects being observed for all treatments. The results from animals' liver analyses showed a pronounced decrease in cholesterol for all experiments. So, it was concluded that the tested substances (flavonoids, medicines and dyes) have both synergic and hypolipidemic effects when administered by intraperitoneal and oral via to male Wistar mice.

1. INTRODUÇÃO

Até a década de 60, as doenças infecto-parasitárias eram as que mais causavam mortes no Brasil. A partir daí, as doenças do coração assumiram a liderança, sendo as responsáveis pela maior despesa com assistência médica e hospitalar. São cerca de 300 mil falecimentos por ano, ou seja, 820 por dia (REVISTA SAÚDE, 1997).

Esse problema não está restrito ao Brasil. Em um estudo projetado para o ano 2030, nos USA (onde as doenças cardiovasculares são responsáveis por 70 a 80% das mortes em pessoas com mais de 65 anos), um em cada cinco indivíduos terão mais de 65 anos naquela citada data (WEY et al., 1997). Esses dados mostram a importância de se obter novos fármacos que possam amenizar ou resolver esse problema.

Entre as doenças cardiovasculares mais comuns, que afetam os brasileiros, a principal é a provocada pela aterosclerose, um processo que geralmente tem início na infância, mas apresenta manifestações apenas na vida adulta. É reconhecido seu aspecto multifatorial, caracterizado por acúmulo no íntimo da artéria de várias espécies de células (musculares lisas, macrófagos e linfócitos-T); por formação, pelas células musculares lisas de células proliferadas, de grandes quantidades de matriz do tecido conjuntivo, incluindo colágeno, fibras elásticas e proteoglicanos; e por acúmulo lipídico, principalmente na forma de colesterol esterificado ou livre no interior das

células, bem como no tecido conjuntivo que os cerca. Esse processo leva à obstrução do fluxo sanguíneo, pelo vaso comprometido, conforme Figura 1.

Os flavonóides constituem uma classe de compostos que está sendo muito estudada, por possuir várias propriedades biológicas importantes na formação do ateroma, sendo antioxidantes, vasodilatadores, inibidores da síntese de prostaglandinas, inibidores da lipase, ciclooxigenase e 7α hidroxicolesterol, estimuladores da adenil ciclase, inibidores da atividade da AMP_c e, ainda, aumentam a atividade das Cit P450 e b5. (HARBORNE, 1994; KINSELLA et al., 1993; FRANKEL et al., 1993).

Assim, os flavonóides vêm-se tornando promissores fármacos naturais, visto que ocorrem amplamente na natureza e são de fácil obtenção. Quando associados a medicamentos já utilizados, podem resultar numa ação sinérgica, potencializando o efeito desejável, tornando-se uma nova fonte para o tratamento de pacientes com dislipidemia.

O estudo teve o objetivo de avaliar o efeito hipolipidêmico de flavonóides como a morina, quercetina, naringenina, rutina e seu efeito sinérgico, quando foram associados a medicamentos, como ácido nicotínico, e a colestiramina ou, ainda, quando associados aos corantes naturais antocianina e *Monascus*.

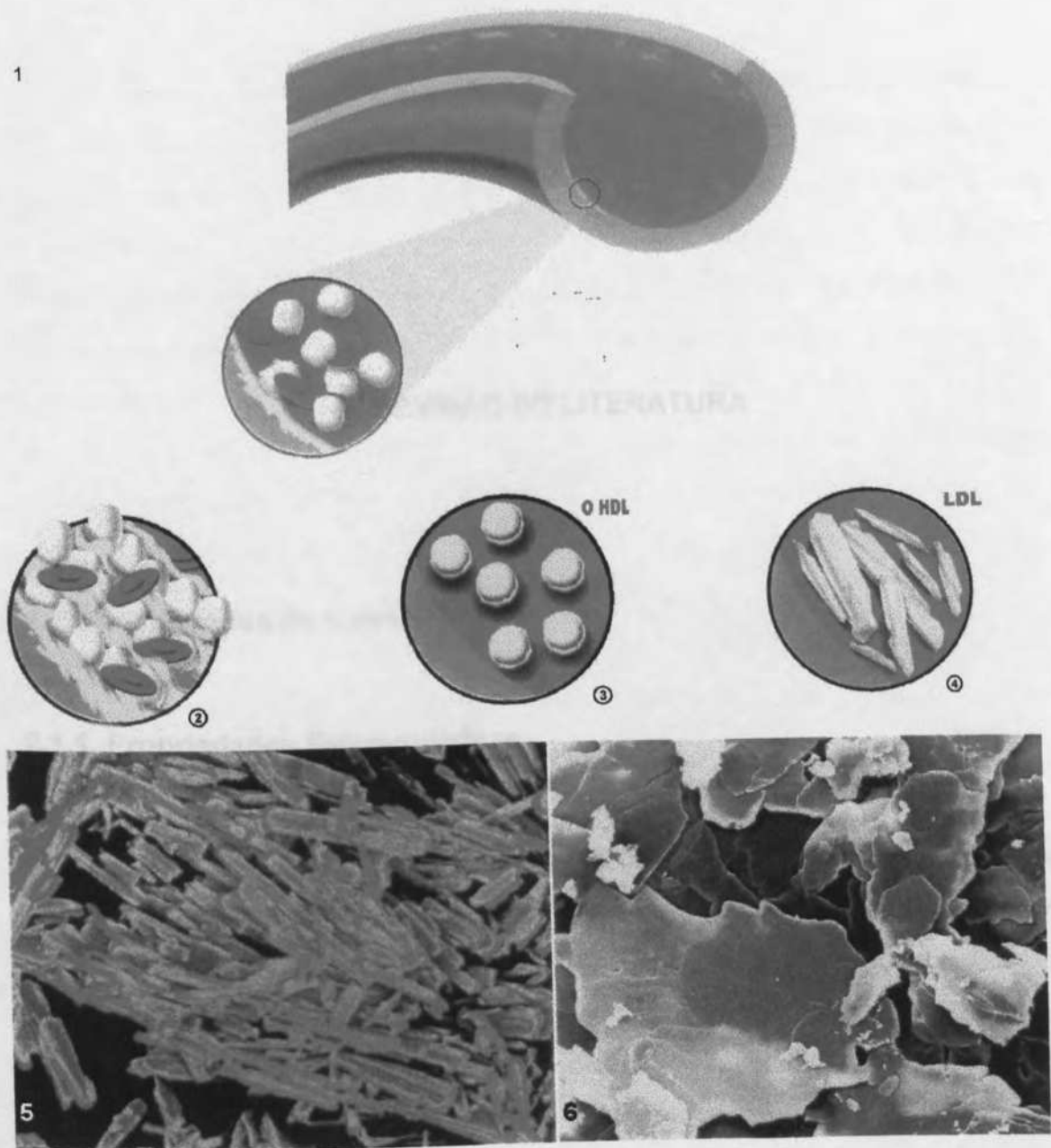


1. O colesterol é sintetizado no fígado e em outros tecidos a partir de acetil-CoA e do acetato de colesterol.
2. O transporte do colesterol para os tecidos ocorre através de lipoproteínas de baixa densidade (LDL).
3. O LDL é oxidado no local de deposição do colesterol, sendo a oxidação do LDL o primeiro passo na formação da placa.
4. O LDL oxidado promove a adesão de células brancas do sangue, como os leucócitos.
5. Os leucócitos se acumulam no local e liberam enzimas que degradam o tecido conjuntivo.
6. O tecido conjuntivo degradado é substituído por tecido fibroso, formando a placa aterosclerótica.

Fonte: OLIVEIRA (2007).

Figura 1 - Formação do placa aterosclerótica.

1



- 1- Gorduras e células de defesa endurecem os vasos, a partir da pressão alta e do estresse que esburacam as paredes internas nas veias e artérias, de forma que as valas formadas prendem as gorduras que atraem as células brancas e vermelhas do sangue.
- 2- O sangue forma um coágulo, prendendo mais gorduras (camadas), que atraem mais células do sangue.
- 3- O HDL, também chamado de colesterol de alta densidade (bom), ajuda a remover as placas nas artérias.
- 4- O LDL (colesterol de baixa densidade) é atraído pelas lesões arteriais, acumulando-se nelas.
- 5- Os cristais de colesterol ficam presos nos machucados dos vasos sanguíneos.
- 6- Dietas inadequadas fazem as células do sangue (vermelhas) conviver com enormes moléculas gordurosas (amarelas).

Fonte: OLIVEIRA (1997).

Figura 1 - Formação da placa aterosclerótica.

2.1.2. Propriedades biológicas

O colesterol está presente em todas as células, sendo utilizado e oxidado como combustível para as atividades vitais. Ele é transportado no sangue por lipoproteínas, sendo encontrado em todas as células do corpo. O colesterol é um componente essencial das membranas celulares e serve como precursor para a síntese de hormônios sexuais e vitamina D. Ele também é utilizado na síntese de ácidos biliares, que são necessários para a digestão de gorduras. O colesterol é encontrado em altas concentrações no fígado, no intestino e no tecido adiposo.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Uma parte do colesterol do organismo é sintetizada no fígado (endógena) e a outra é fornecida pela dieta a partir do ácido CoA (exógena). A síntese é possível em todas as células, sendo mais ativa em alguns tecidos.

2.1. Propriedades do colesterol

2.1.1. Propriedades físico-químicas

O colesterol cristaliza-se em agulhas brancas muito finas, é solúvel em solventes orgânicos, principalmente em éter de petróleo. Embora a estrutura molecular desse composto, 27 átomos de carbono, sugira uma biossíntese de grande complexidade, todos os seus átomos de carbono são fornecidos por um único precursor, o acetato. O estudo dessa via possibilita compreender o transporte do colesterol e dos lipídeos para outros órgãos, o processo pelo qual ele penetra nas células (endocitose mediada por receptores), os meios pelos quais a alimentação influencia a produção intracelular de colesterol, cuja falha na regulação da produção afeta a nossa saúde.

O colesterol forma ésteres com diversos ácidos graxos e pode sofrer hidrogenação, produzindo colestanol. Pode se fixar ao iodo, em sua ligação dupla, permitindo-se medir o índice de iodo deste e dos esteróides derivados que têm mais de uma ligação dupla (BOREL et al., 1989).

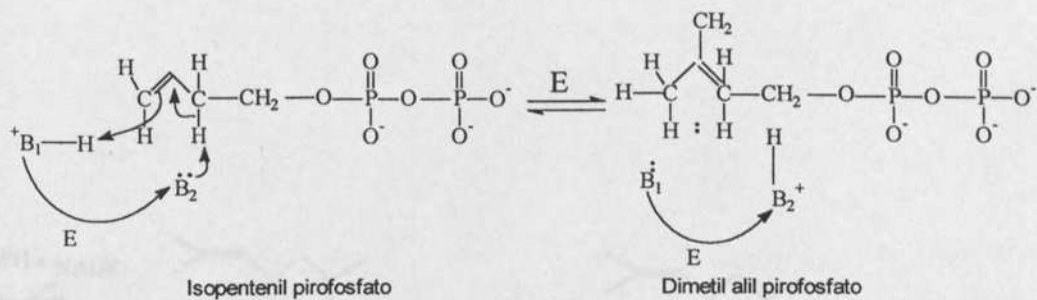
2.1.2. Propriedades biológicas

O colesterol está presente em todas as células, sendo sintetizado a partir de moléculas de acetato, encontrando-se na forma esterificada, por ácidos graxos (ácido palmítico, esteárico e oléico), ou não-esterificada. É um constituinte das membranas celulares e serve como precursor dos ácidos biliares nas células hepáticas que, através da bile, chegam ao intestino. Em diversas células especializadas (córtex da supra renal, ovário e testículos), serve de precursor de hormônios esteroidais (BOREL et al., 1989).

Uma parte do colesterol do organismo provém da alimentação (exógeno), e a outra é formada pela síntese a partir da acetil-CoA (endógeno). A síntese é possível em todas as células, sendo mais ativa em alguns tecidos como o fígado, o intestino, as glândulas córtex da glândula supra-renal. Uma pequena fração do colesterol sintetizado no fígado é incorporada nas membranas dos hepatócitos, mas a maior parte é exportada sob uma das seguintes formas: ácidos biliares, ésteres do colesterol e, ou, lipoproteínas.

2.2. Biossíntese do colesterol

A biossíntese do colesterol está esquematizada na Figura 2.



E= Isopentenil pirofosfato isomerase

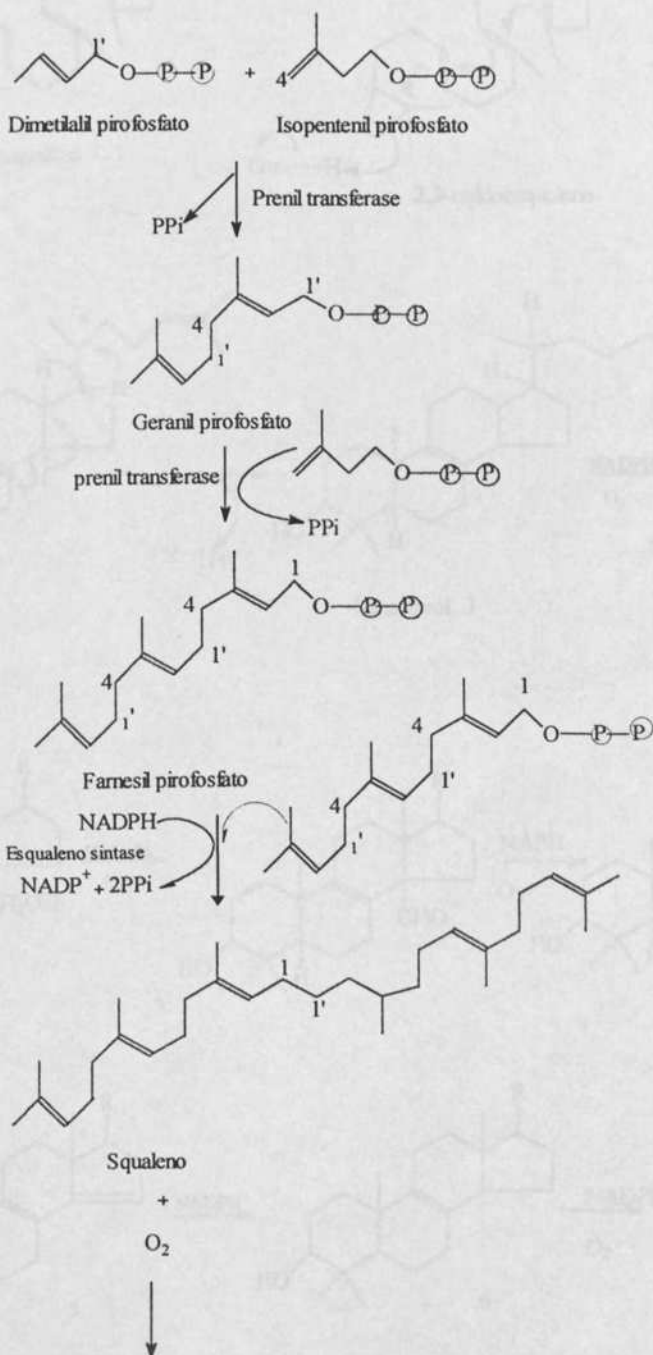


Figura 2, Cont.

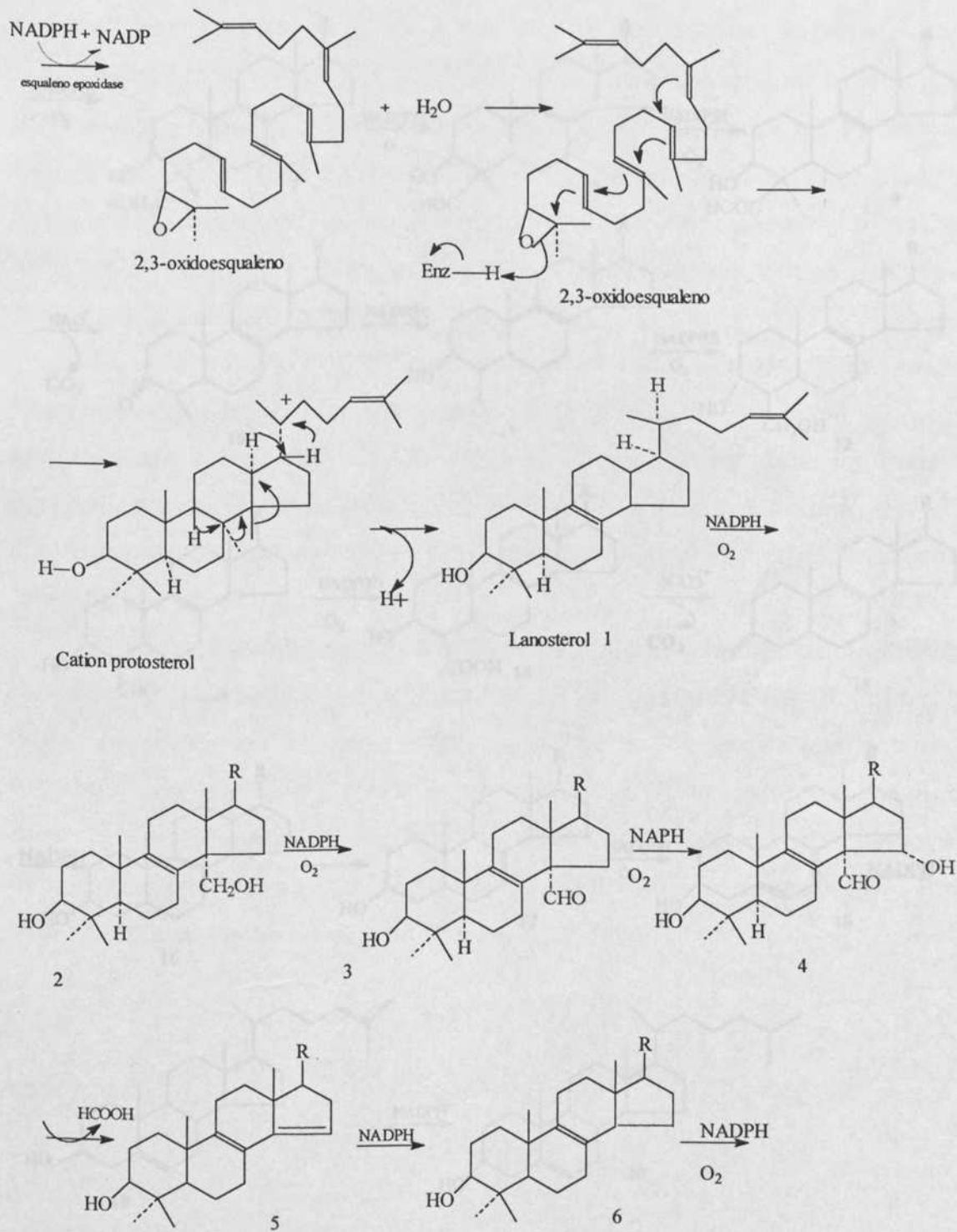


Figura 2, Cont.

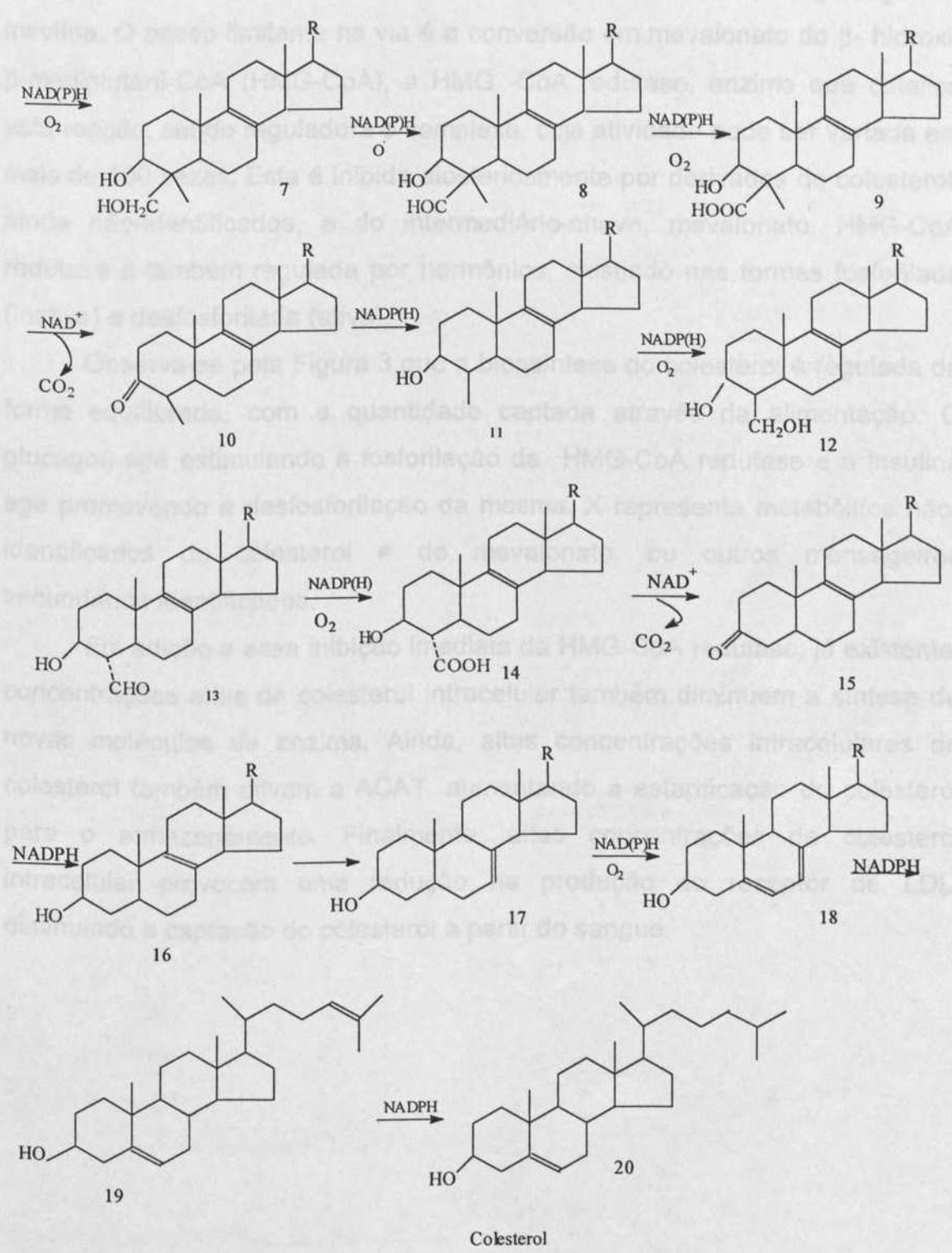


Figura 2, Cont.

A síntese do colesterol é um processo extenso e forte consumidor de energia, tornando-se muito vantajoso para um organismo ser capaz de regular sua síntese, conforme Figura 3. Nos mamíferos, a produção do colesterol é regulada pela concentração intracelular e pelos hormônios glucagon e insulina. O passo limitante na via é a conversão em mevalonato do β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA), a HMG-CoA redutase, enzima que catalisa esta reação, sendo reguladora e complexa, cuja atividade pode ser variada em mais de 100 vezes. Esta é inibida alostericamente por derivados do colesterol, ainda não-identificados, e do intermediário-chave, mevalonato. HMG-CoA redutase é também regulada por hormônios, existindo nas formas fosforilada (inativa) e desfosforilada (ativa).

Observa-se pela Figura 3 que a biossíntese do colesterol é regulada de forma equilibrada, com a quantidade captada através da alimentação. O glucagon age estimulando a fosforilação da HMG-CoA redutase e a insulina age promovendo a desfosforilação da mesma. X representa metabólitos não-identificados do colesterol e do mevalonato, ou outros mensageiros secundários identificados.

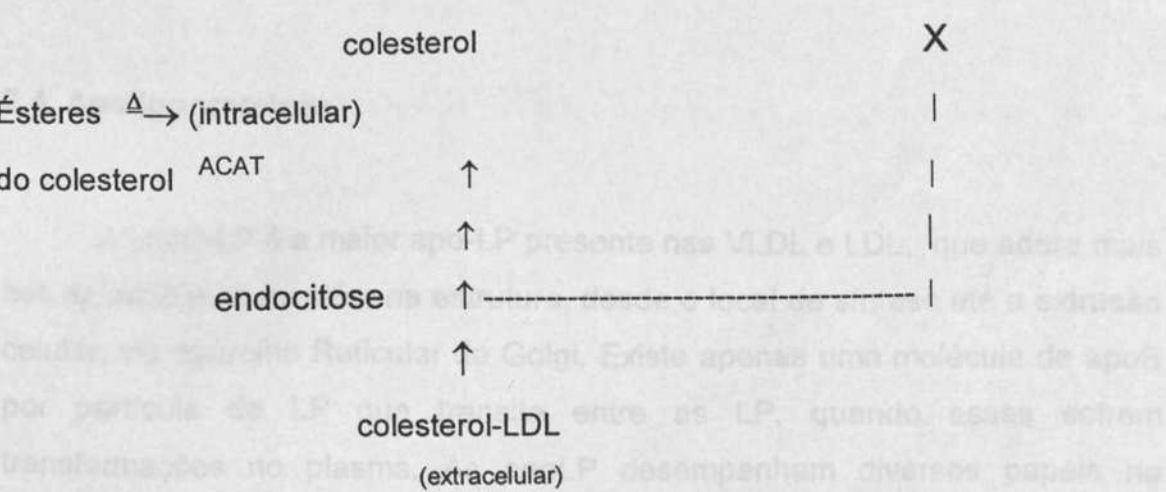
Em adição a essa inibição imediata da HMG-CoA redutase, já existente, concentrações altas de colesterol intracelular também diminuem a síntese de novas moléculas da enzima. Ainda, altas concentrações intracelulares de colesterol também ativam a ACAT, aumentando a esterificação do colesterol para o armazenamento. Finalmente, altas concentrações de colesterol intracelular provocam uma redução na produção do receptor de LDL, diminuindo a captação do colesterol a partir do sangue.

2.2 Transporte de lipídios

O colesterol, as lipoproteínas de transporte, bem como as vitelínicas e os fosfolípidos são essenciais para a vida em água. Esses lipídios precisam, portanto, ser transportados de um local de origem (ou a origem, onde são sintetizados, ou a finalidade) para os locais, para onde eles são necessários.

Para esse transporte, os lipídios são incorporados às lipoproteínas (LP) que são agregados de moléculas de apolipoproteínas e de esfingolipídios, constituídas de componentes altamente hidrofóbicos.

Para esse transporte, os lipídios são incorporados às lipoproteínas (LP) que são agregados de moléculas de apolipoproteínas e de esfingolipídios, constituídas de componentes altamente hidrofóbicos. Essas moléculas são solúveis em água, permitindo a circulação de lipídios no sangue. As proteínas designadas apolipoproteínas (AP) formam um mosaico externo com segmentos hidrofílicos que permitem a solubilidade do agregado em meio aquoso (QUINTÃO e NAKAMURA, 1992).



- Δ- Insulina
- ⊗- Glucagon
- ACAT-Acyl Coesterol Transferase

Fonte: LEHNINGER et al., 1995.

Figura 3 - Regulação da síntese do colesterol.

2.3. Transporte de lipídeos

O colesterol, os ésteres do colesterol, bem como os triacilgliceróis e os fosfolipídeos são essencialmente insolúveis em água. Esses lipídeos precisam, entretanto, ser transportados de um tecido de origem (ou o fígado, onde são sintetizados, ou o intestino, onde eles são absorvidos) para os tecidos, nos quais eles serão armazenados ou consumidos (LEHNINGER et al., 1995).

Para esse transporte, o organismo utiliza as lipoproteínas (LP), que são agregados de moléculas com forma aproximadamente esférica, constituídas de componentes altamente hidrofóbicos em seu interior, como colesterol esterificado, triacilgliceróis, além de vitaminas lipossolúveis, moléculas periféricas como fosfolipídeos e colesterol não-esterificado. As proteínas, designadas apolipoproteínas (Apo- LP), formam um mosaico externo com segmentos hidrofóbicos e hidrofílicos que permitem a solubilidade do macroagregado em meio aquoso (QUINTÃO e NAKANDAKARE, 1992).

2.4. Apolipoproteínas

A apoB-LP é a maior apo-LP presente nas VLDL e LDL, que adere mais aos lipídeos e se mantém na estrutura, desde o local de síntese até a extrusão celular, via aparelho Reticular de Golgi. Existe apenas uma molécula de apoB por partícula de LP que transita entre as LP, quando essas sofrem transformações no plasma. As apoLP desempenham diversos papéis na regulação de enzimas e de proteínas que participam no metabolismo das LP. No Quadro 1, são discriminadas algumas das principais funções das apo-LP, o local de produção, e a composição nas lipoproteínas.

Quadro 1 - Principais funções das Apo-LP, local de produção e composição nas LP

Apo-Lp	Funções	Origem	Participação na LP
A-I	Ativador de LCAT e remoção celular de colesterol	Intestino e fígado	HDL ₃
A-II	Inibe remoção celular do colesterol	Intestino e fígado	HDL ₂ e HDL ₃
A-IV	Remoção de colesterol de macrófagos; diminui a remoção de VLDL	Intestino e fígado	HDL e Quilomícrons
B-100	Reconhece o receptor B-E	Fígado	VLDL e LDL
B-48	Reconhece o receptor B-E e α -2 macroglobulina		
C-I	Ativador da LCAT	Fígado	Quilomícrons, VLDL, HDL
C-II	Ativador da enzima lipoproteína lipase (LLP)	Fígado	Quilomícrons, VLDL, HDL
C-III	Inibidor da captação de VLDL e quilomícrons por receptores	Fígado	Quilomícrons, VLDL, HDL
E	Reconhecimento por receptores	Fígado	Quilomícrons, VLDL, LDL, HDL

Fonte: QUINTÃO e NAKANDAKARE, 1992.

O colesterol e os triacilgliceróis são transportados para as células-alvo por lipoproteínas: Tanto os lipídeos provenientes da dieta (exógenos), como aqueles sintetizados pelo próprio organismo (endógenos), organizam-se na forma de macro agregados lipoprotéicos e são transportados por lipoproteínas. Os triacilgliceróis e o colesterol esterificado, nesses agregados, estão envolvidos por fosfolipídeos e colesterol livre, ligando-se a proteínas específicas, denominadas apoproteínas. Esse transporte de lipídeos está ilustrado na Figura 4.

As lipoproteínas podem ser separadas em 5 principais classes: QM, VLDL, IDL, LDL e HDL.

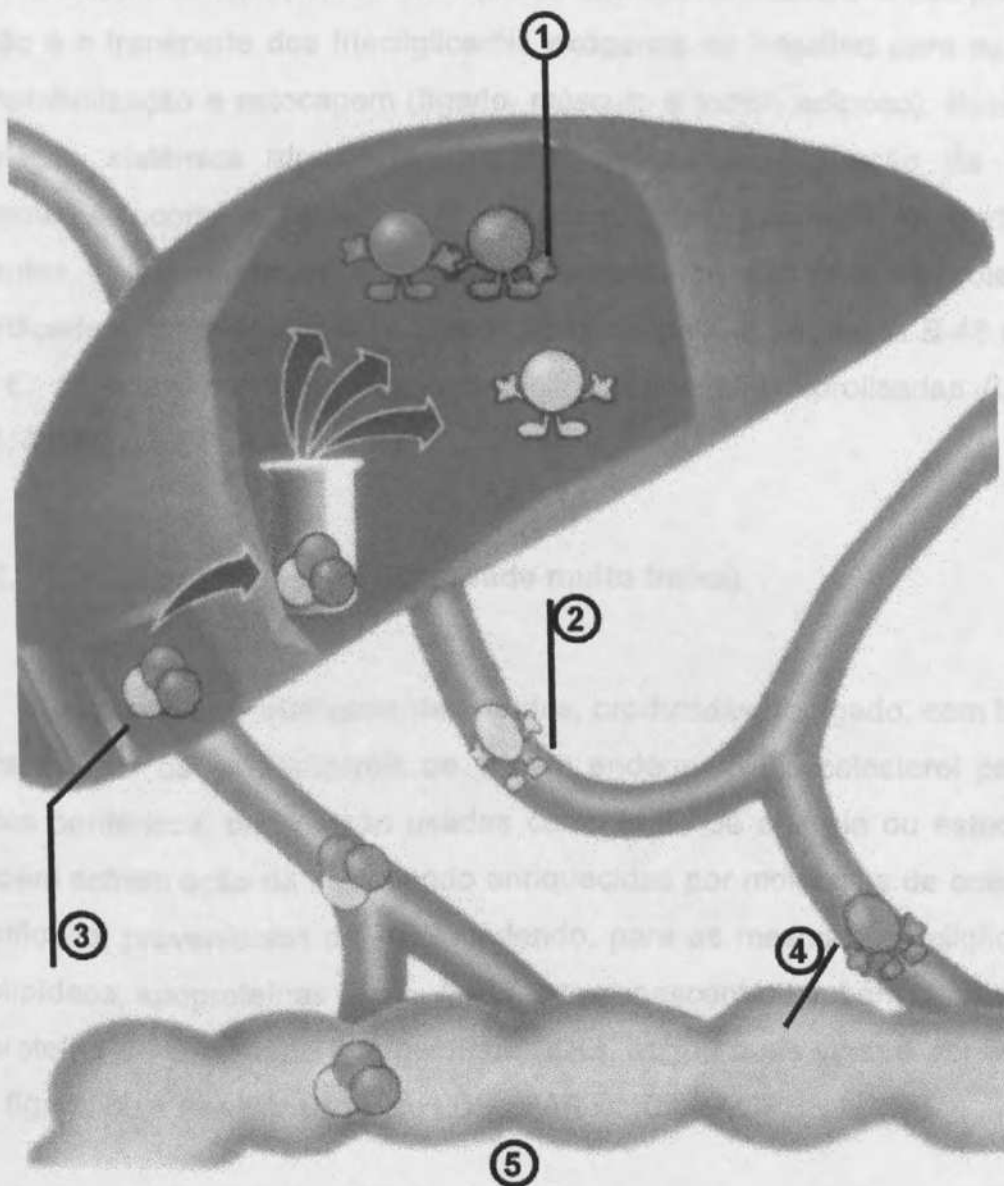


- 1- O VLDL e o LDL podem unir-se, a formar triglicéridos. Já o LDL é mais perigoso, ele deixa sua carga de colesterol pelas paredes das artérias.
- 2- O HDL transporta o colesterol de volta ao fígado.
- 3- No fígado, os lipídeos são transformados em VLDL, IDL e HDL.
- 4- Em nível arterial, o LDL permanece em circulação, depositando mais colesterol nas artérias.
- 5- Ao chegar ao tecido, o lipídico produzido no fígado se transforma em quilomicros, lipoproteína que sequestra para o fígado.

Fonte: REVISTA SAÚDE, 1993.

Figura 4 - Transporte do colesterol.

Apenas 30% do colesterol é proveniente dos alimentos. O restante é fabricado no fígado. Para circular no sangue, o colesterol utiliza as lipoproteínas LDL, HDL, VLDL e quilomícrons:



- 1- O VLDL e o LDL podem unir-se e formar triglicérides. Já o LDL é mais perigoso: ele deixa sua carga de colesterol pelas paredes das artérias;
- 2- O HDL transporta o colesterol depositado na circulação de volta ao fígado;
- 3- No fígado, os quilomícrons são transformados em VLDL, LDL e HDL;
- 4- Em níveis excessivos, o LDL permanece em circulação, depositando mais colesterol nas artérias;
- 5- Ao chegar ao intestino, o alimento processado se transforma em quilomícrons, lipoproteínas que seguem para o fígado.

Fonte: REVISTA SAÚDE, 1997.

Figura 4 - Transporte do colesterol.

2.4.1. Quilomícrons (QM)

São as maiores lipoproteínas que se formam no intestino e sua principal função é o transporte dos triacilgliceróis exógenos do intestino para os sítios de metabolização e estocagem (fígado, músculo e tecido adiposo). Passam à circulação sistêmica através do sistema linfático e por ação da lipase lipoprotéica, ocorre a hidrólise de seu conteúdo triglicérico. As partículas restantes, denominadas quilomícrons remanescentes, são ricas em colesterol esterificado e ligam-se aos receptores hepáticos pela apoproteína B-48 e pela apo E, as quais penetram nos hepatócitos, onde são hidrolisadas (LEITE, 1994; SCARTEZINI et al., 1997).

2.4.2. VLDL (lipoproteína de densidade muito baixa)

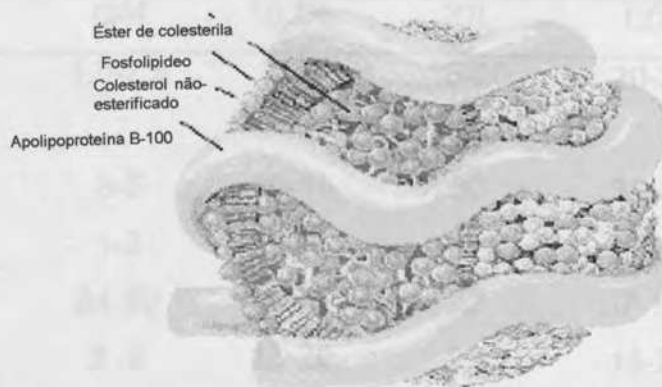
São partículas relativamente grandes, produzidas no fígado, com função de transportar os triacilgliceróis de origem endógena e o colesterol para os tecidos periféricos, onde serão usadas como fonte de energia ou estocadas. Também sofrem ação da LLP, sendo enriquecidas por moléculas de colesterol esterificado, provenientes da HDL, cedendo, para as mesmas, triacilgliceróis, fosfolípidos, apoproteínas C e E. A VLDL remanescente, também chamada de lipoproteína de densidade intermediária (IDL), segue duas vias: é apreendida pelo fígado ou é transformada em LDL (MARTINEZ e LOPES, 1997).

2.4.3. IDL (lipoproteína de densidade intermediária)

Após sua formação, é removida da circulação sistêmica pelo fígado, através de receptores B/E-receptor de LDL, que reconhecem as estruturas da apo B-100 e da apo E, constituintes dos receptores B/E hepáticos. As IDL restantes sofrem ação da lipase hepática dos triacilgliceróis, perdendo triacilgliceróis e fosfolípidos, dando origem às LDL. Não é detectada em condições normais de jejum.

2.4.4. LDL (lipoproteína de baixa densidade)

É a lipoproteína que carrega maior conteúdo de colesterol, transportando-o para regiões onde este exerce papel fisiológico, como formação de membranas celulares, de hormônios esteroidais e de sais biliares. São produzidas, na maior parte, a partir das VLDL e removidas da circulação por receptores B/E hepáticos. O aumento de seu nível sérico guarda estreita relação com a aterogênese acelerada. As LDL modificadas quimicamente, ou seja, acetiladas glicosiladas, oxidadas, têm potencial aterogênico ainda maior. A molécula de LDL é composta de 1.500 moléculas de éster de colesterol e 500 moléculas de colesterol livre. Essa proporção fica muito evidenciada na Figura 5.



Fonte: VOET e VOET (1995).

Figura 5 - Ilustração da molécula de LDL.

2.4.5. HDL (lipoproteína de alta densidade)

A sua parte central contém ésteres de colesterol e uma camada de lipoproteínas contendo colesterol não-esterificado, fosfolípidos e apoproteínas. O fígado e o intestino secretam as HDL, contendo apo A I e II, fosfolípidos e possivelmente apo E (GRUNDY, 1983). Através de reações com LCAT (lecitina acil transferase), com a qual é ativado por AI, o colesterol é

esterificado e incorporado no centro. O resultado é uma partícula menor e esférica, chamada HDL 3, que é convertida para HDL 2, por inserção de duas ou três moléculas de éster de colesterol no centro, após a influência de LLP (lipoproteína lipase) e LCAT (lecitina acil transferase) (EISENBERG, 1984). Sua função é o transporte de colesterol livre, dos tecidos periféricos para o fígado (transporte reverso do colesterol). É denominado bom colesterol, por sua função, e isso torna seu controle muito importante (LEITE, 1994).

No Quadro 2 é mostrada a percentagem de cada constituinte das lipoproteínas.

Quadro 2 - Constituição das lipoproteínas

Constituição %	QM	VLDL	IDL	LDL	HDL
proteína	1.5-2.5	5-10	15-20	20-25	40-55
éster de					
colesteril	3-5	10-15	30	35-40	12
colesterol livre	1-3	5-10	8	7-10	3-4
triacilgliceróis	84-89	50-65	22	7-10	3-5
fosfolipídeos	7-9	15-20	22	15-20	20-35
apolipoproteína	2	8	16	21	44

Fonte: VOET e VOET (1995).

2.5. Destino do colesterol

Para a formação dos esteróides, são possíveis duas vias de esterificação. A primeira, em nível de fígado, utilizando como doador de ácido graxo um acil-CoA, sendo a reação de esterificação catalisada pelo colesterol esterase. No sangue, um segundo mecanismo de esterificação interessa ao colesterol, já incluído na estrutura das LDL, uma via de esterificação preponderante no homem. Utiliza como doador de ácido graxo uma molécula

de lecitina (fosfatidil-colina) e é catalisada pela lecitina acil transferase (L.C.A.T).

2.6. Níveis considerados normais de lipídeos na corrente sangüínea

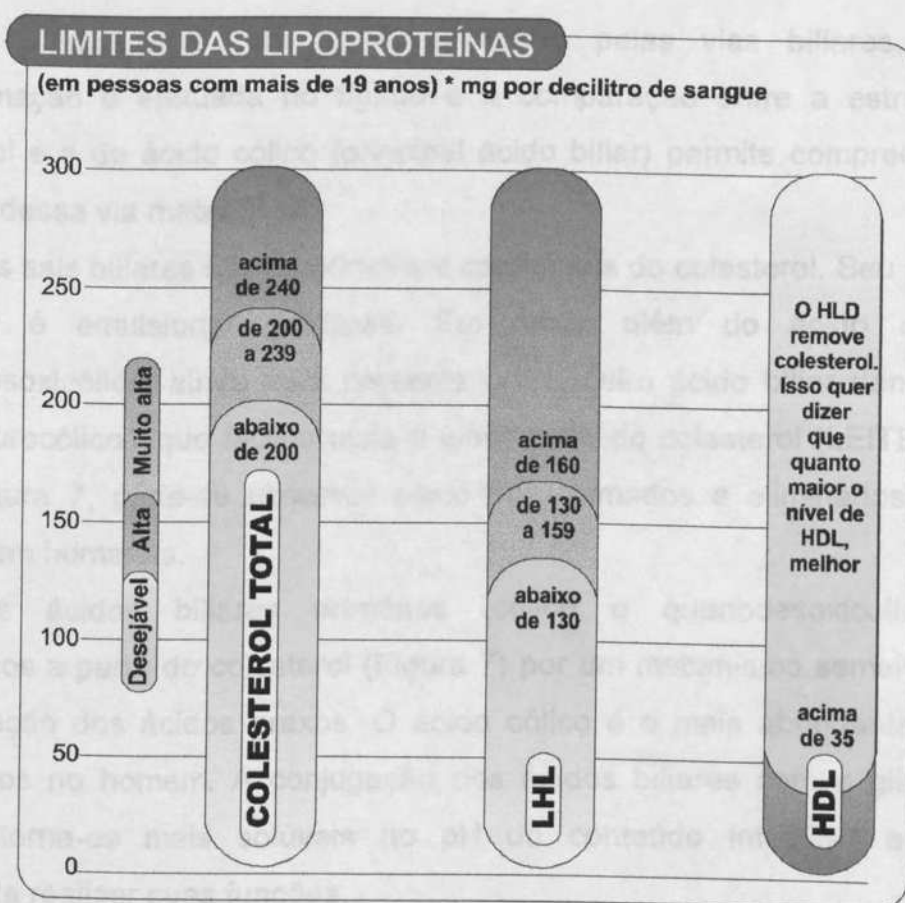
É importante salientar que os valores normais de colesterol total no sangue variam entre 150 e 250 mg/dL, sendo formado por duas frações, uma de colesterol livre e uma de esterificado (combinado com ácidos graxos), representando, 20 a 40% e 60 a 80% do total, respectivamente. A relação entre essas duas frações se mantém constante, apesar das amplas variações da colesterolemia, que pode ocorrer em estados patológicos, exceto em moléstias do fígado, nas quais a redução da parte esterificada é proporcional à gravidade da lesão parenquimatosa, podendo atingir 20 a 30% do total (OLIVEIRA, 1994).

Na aterosclerose, pode ocorrer hipercolesterolemia e, ou, hiperlipidemia. O nível do colesterol e, ou, dos lipídeos totais podem conferir significação prognóstica, quanto ao risco de acidente vascular. Estudos revelam que os indivíduos com hipercolesterolemia, hipertensos, e que fumam são oito vezes mais propensos à aterosclerose do que aqueles nos quais esses fatores estão ausentes. Friedman, citado por LIMA et al. (1985), baseando-se em estudos estatísticos, afirma que pacientes com níveis de colesterol entre 250 e 350 mg/dL correm o risco de acidentes vasculares, três a cinco vezes maior que os indivíduos com o colesterol dentro dos limites aceitáveis e, se a hipercolesterolemia persiste, acima de 350mg/dL, leva necessariamente ao acidente vascular. Encontram-se na Figura 6 os níveis de colesterol, colesterol-HDL e colesterol-LDL para indivíduos com mais de 19 anos.

2.7. Métodos de separação

A composição das LP permite sua separação por ultracentrifugação, sendo que quanto maior a proporção lipídica, menor a densidade; quanto menor a fração proteica, maior a densidade. A menor densidade é atribuída aos triacilgliceróis, que constituem o principal componente dos quilomírons (de origem intestinal) e dos VLDL (de origem hepática). Separam-se também por eletroforese (em diversos tipos de suportes), como papel, amido, gel de poliacrilamida, e são identificados por diversos corantes lipícos de escolha (DREWER JR. et al, 1998).

2.8. Vias de eliminação do colesterol



Fonte: BOCCIA (1997).

Figura 6 - Limites das lipoproteínas em mg/dL, em humanos.

2.7. Métodos de separação

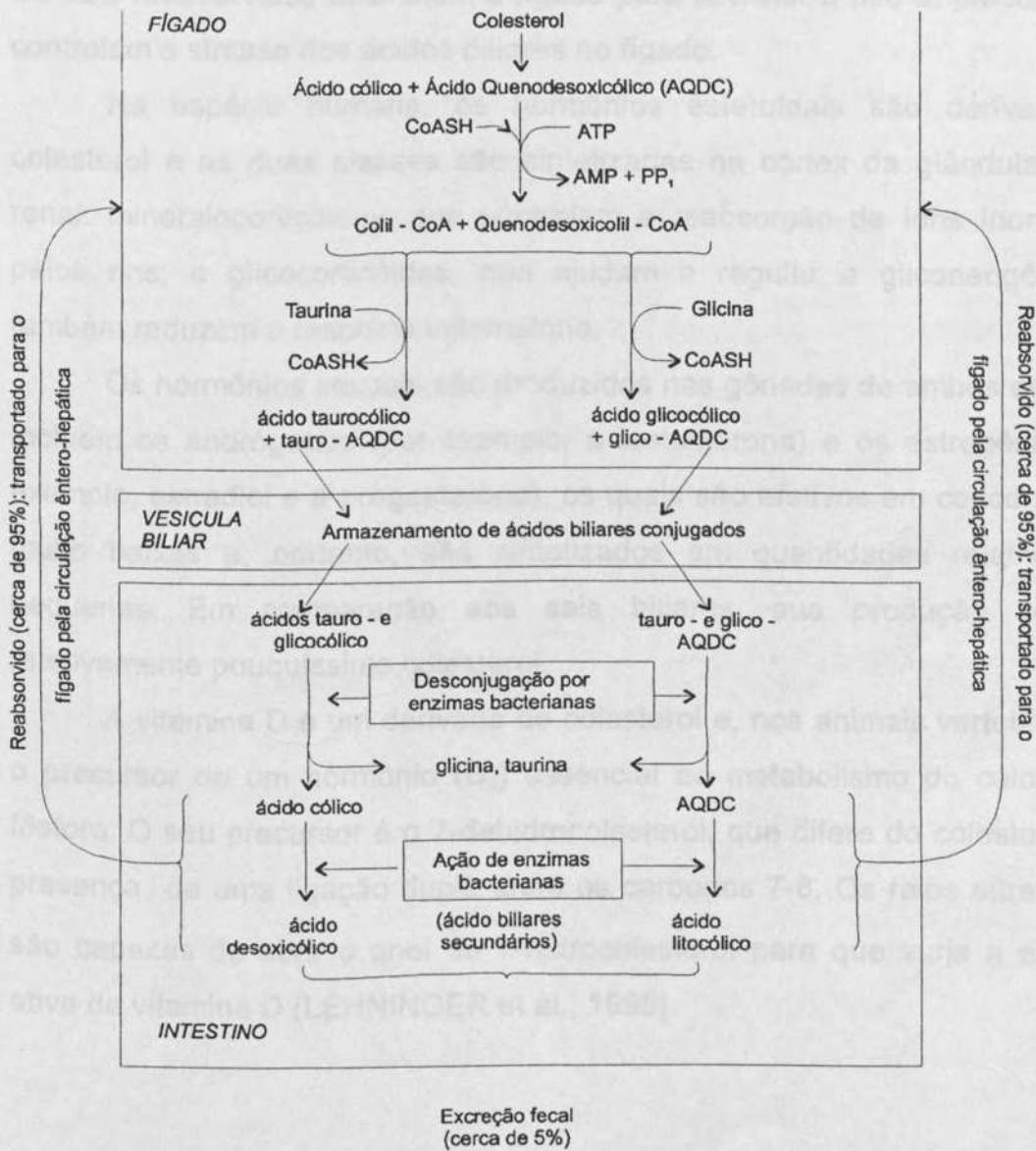
A densidade das LP permite sua separação por ultracentrifugação, sendo que, quanto maior a proporção lipídica, menor a densidade; quanto maior a fração protéica, maior a densidade. A menor densidade é atribuída aos triacilgliceróis, que constituem o principal componente dos quilomícrons (de origem intestinal) e das VLDL (de origem hepática). Separam-se também por eletroforese (em diversos tipos de suporte), como papel, amido, gel de poliacrilamida, agarose e são identificados por diversos corantes típicos de gorduras (BREWER JR. et al, 1988)

2.8. Vias de eliminação do colesterol

O colesterol é, em parte, eliminado pelas vias biliares. A sua transformação é efetuada no fígado e a comparação entre a estrutura do colesterol e a do ácido cólico (principal ácido biliar) permite compreender as reações dessa via metabólica.

Os sais biliares são os principais catabólitos do colesterol. Seu papel na digestão é emulsionar gorduras. Em ratos, além do ácido cólico e quenodesoxicólico, ainda está presente um terceiro ácido biliar denominado ácido murocólico, que facilita mais a eliminação do colesterol (LEITE, 1993). Pela Figura 7, pode-se observar como são formados e eliminados os sais biliares em humanos.

Os ácidos biliares primários (cólico e quenodesoxicólico) são produzidos a partir do colesterol (Figura 7) por um mecanismo semelhante ao da oxidação dos ácidos graxos. O ácido cólico é o mais abundante desses compostos no homem. A conjugação dos ácidos biliares com a glicina e a taurina torna-os mais solúveis no pH do conteúdo intestinal e, assim, possibilita realizar suas funções.



Fonte : BAGAVAN (1977).

Figura 7 - Formação e deposição dos sais biliares (ácidos biliares).

Dessa maneira, o processo de conjugação no fígado é obrigatório para ótima absorção lipídica. No pH da bile, esses ácidos encontram-se como sais, embora os nomes ácido e sais biliares sejam, com freqüência, usados alternadamente. As enzimas das bactérias intestinais convertem os ácidos biliares primários em secundários (ácidos desoxicólico e litocólico). Os sais biliares são em grande parte reabsorvidos para a circulação êntero-hepática. Os sais reabsorvidos estimulam o fígado para secretar a bile e, parcialmente, controlam a síntese dos ácidos biliares no fígado.

Na espécie humana, os hormônios esteroidais são derivados do colesterol e as duas classes são sintetizadas na córtex da glândula supra-renal: mineralocorticóides, que controlam a reabsorção de íons inorgânicos pelos rins; e glicocorticóides, que ajudam a regular a gliconeogênese e também reduzem a resposta inflamatória.

Os hormônios sexuais são produzidos nas gônadas de ambos os sexos. Incluem os andrógenos (por exemplo, a testosterona) e os estrogênios (por exemplo, estradiol e a progesterona), os quais são efetivos em concentrações muito baixas e, portanto, são sintetizados em quantidades relativamente pequenas. Em comparação aos sais biliares, sua produção consome relativamente pouquíssimo colesterol.

A vitamina D é um derivado do colesterol e, nos animais vertebrados, é o precursor de um hormônio (D_3) essencial ao metabolismo do cálcio e do fósforo. O seu precursor é o 7-deidrocolesterol, que difere do colesterol pela presença de uma ligação dupla entre os carbonos 7-8. Os raios ultravioletas são capazes de abrir o anel do 7-hidrocolesterol para que surja a estrutura ativa da vitamina D (LEHNINGER et al., 1995).

2.9. Substâncias testadas no controle do colesterol

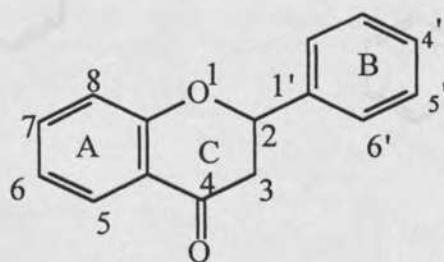
2.9.1. Flavonóides

1) Flavonóides constituem um grupo de derivados fenólicos amplamente distribuídos na natureza. Até 1996, cerca de 4.000 flavonóides diferentes tinham sido caracterizados quimicamente e novas estruturas têm sido estudadas (COOK e SAMMAN, 1996).

2) São compostos fenólicos, constituídos de dois anéis aromáticos, unidos por C₃. Com base no grau de oxidação dos C₃, são divididos nas seguintes subclasses: flavonol, flavanona, isoflavonóides e antocianina. Grupos menores de flavonóides também têm sua ocorrência relatada, tais como: chalconas, auronas, flavanonas, isoflavonas, biflavonóides e leucoantocianidinas.

3) Cada tipo de flavonóide sofre modificações como hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação e ramnosilação, resultando numa enorme diversidade de cores (laranja, vermelho, violeta, azul, amarelo, marfim) (HELLER e FORKMANN, 1988).

Estrutura básica dos flavonóides



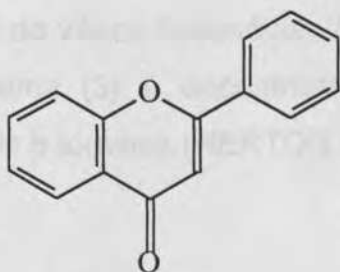
Primeiramente, a síntese de fenóis tem início com quatro moléculas de acetato, que se condensam formando um policetídeo, podendo sofrer condensação de várias maneiras. Estudos revelaram que os primeiros carbonos são derivados do acetil-CoA e que os outros "acetatos" adicionados são provenientes do malonil-CoA (GOODWIN e MERCER, 1983).

O resíduo de fenilpropano (anel B e C_{2,3,4}) é derivado do ácido p-cumárico, sendo este formado pela via do chiquimato. O anel A é derivado basicamente de unidades de acetato, sendo caso especial de síntese policetídica e sua característica é que todos eles são provenientes de unidades C₂, derivadas do acetato (GOODWIN e MERCER, 1983).

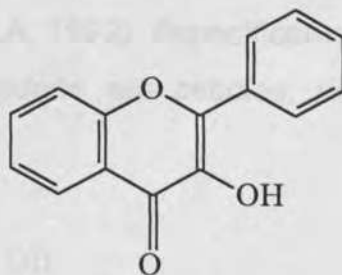
A condensação de uma molécula de 4-coumaril-CoA origina uma flavanona (naringenina) que está em equilíbrio com uma chalcona (KOES et al., 1994; GOODWIN e MERCER, 1983).

Os flavonóides não-glicosilados são altamente solúveis em álcool (etanol, metanol, n-butanol); os menos hidroxilados são solúveis em solventes como éter etílico, acetato de etila e acetona; os mais metoxilados são solúveis em solventes menos polares como o éter de petróleo e clorofórmio; os mais hidroxilados são solúveis em soluções alcalinas; e os altamente hidroxilados se decompõem por ação de bases fortes. Os flavonóides agliconas são solúveis em água e álcool (HARBORNE, 1967).

Entre as várias classes citadas, utilizaremos em nossos estudos compostos do grupo das flavanonas (naringenina); flavonóis (rutina, quercetina e morina); e antocianinas.



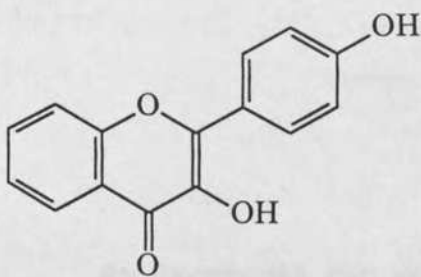
Flavona



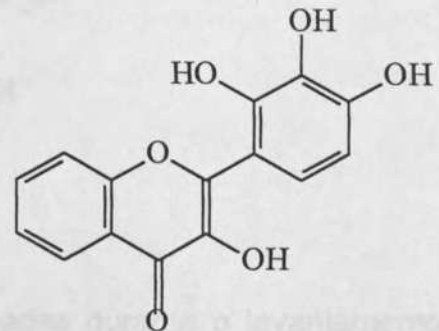
Flavonol

As flavonas e os flavonóis são os mais abundantes dentre os flavonóides de ocorrência natural. A distinção entre ambos é arbitrária, desde que flavonóis são flavonas simples com um grupo hidroxila na posição 3. Essa divisão é conveniente em virtude do grande número de compostos que têm sido isolados. Ambos diferem na cor e no espectro e são distinguidos por meios cromatográficos.

Finalmente, fontes fitoquímicas indicam que a simples diferença na estrutura de ambos leva a uma considerável semelhança filogenética. Um levantamento entre 1.000 angiospermas tem mostrado que kaempferol (1), miricetina (2) e quercetina (3) estão presentes em 1/4 desses, seja isoladamente ou juntos. Trata-se, portanto, dos flavonóides mais comuns em plantas, estando os dois primeiros presentes nas folhas e pétalas de quase todas as plantas.

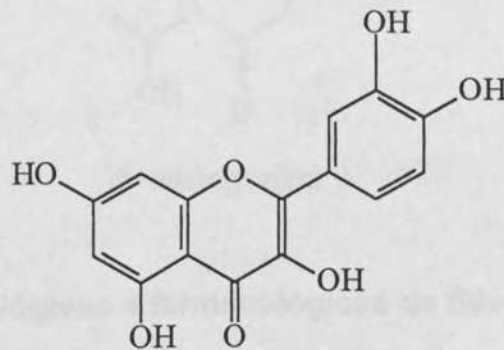


1- kaempferol



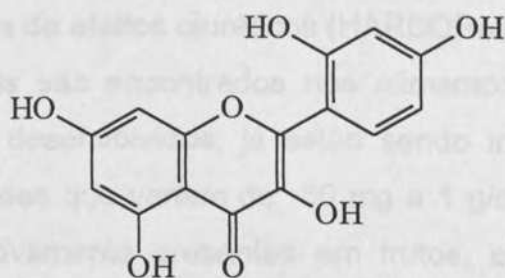
2-miricetina

Todos os três flavonóides ocorrem nos chás instantâneos, tornando-se uma fonte alternativa conveniente. Sendo a quercetina (3) usada na indústria farmacêutica e alimentícia, o chá preto da Índia pode conter aproximadamente 40 mg de vários flavonóides (STRAVIC e MATULA, 1992). Especificamente, a quercetina (3) é encontrada em grande quantidade em cebolas, vagens, brócolis e tomates (HERTOG et al., 1993).



3- quercetina

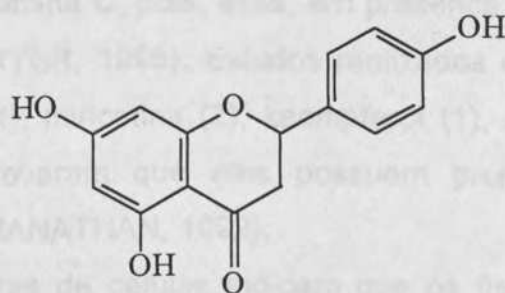
Os 2'-hidroxiflavonóis são raros, ocorrendo somente em algumas plantas, sendo um exemplo a morina (4), presente nos troncos de madeira de *Morus tinctoria*. Suas propriedades são bem conhecidas como corantes e como agente quelante, propriedade essa que induz ao seu uso na área de química analítica.



4- morina

As flavanonas têm sido largamente ignoradas durante o levantamento realizado em plantas, e o conhecimento dessas fundamenta-se no fato de ocorrerem em quantidades variadas nas plantas de interesse econômico. Ocorrem na casca de frutas cítricas e são responsáveis pelo seu gosto amargo, sendo, também, acumuladas em flores, folhas e troncos.

A naringenina (5) foi inicialmente isolada da casca de *Citrus*, por Will, em 1885 (HARBORNE, 1967).



5- naringenina

2.9.2. Propriedades biológicas e farmacológicas de flavonóides

Várias propriedades biológicas e farmacológicas são atribuídas aos flavonóides, tais como: anti-hipertensivos, antiinflamatórios, antialérgicos,

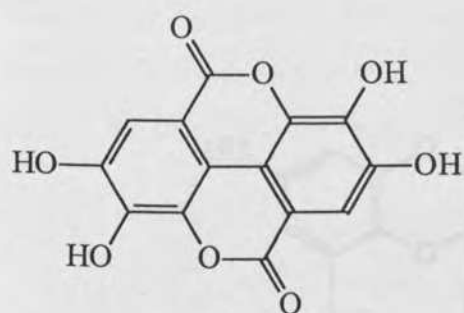
hipocolesterolêmicos, antitumorais, antioxidantes, inibidores ou estimuladores da polinização, antifúngicos, bactericidas, antivirais, vasodilatadores, expectorantes, carminativos, protetores da mucosa gástrica, inibidores de enzimas como a lipoxigenase, aldose redutase, inibidores da biossíntese de prostaglandinas, anti-hepatotóxicos, influenciadores dos hormônios da tireóide, relaxantes musculares, ativadores de linfócitos, atuantes sobre a agregação plaquetária e possuidores de efeitos diuréticos (HARBORNE, 1994).

Diversos polifenóis são encontrados nos alimentos e dentre eles os flavonóides. Em países desenvolvidos, já estão sendo incluídos nas dietas flavonóides em quantidades que variam de 50 mg a 1 g/dia de derivados de benzo-piranos, significativamente presentes em frutos, cereais, chás, café, vinho, cerveja e sementes.

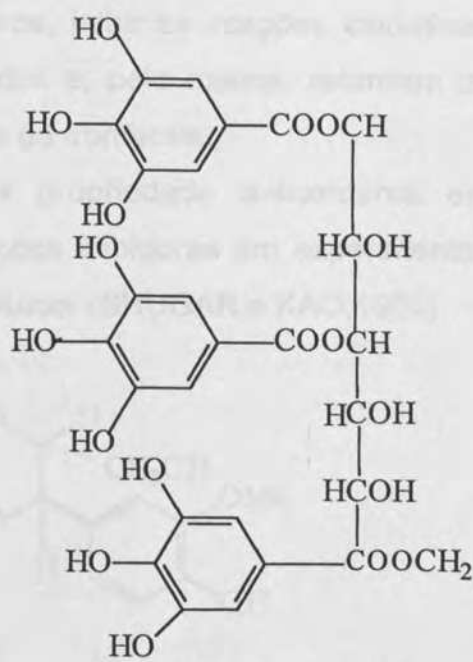
Embora essa classe de compostos não esteja sendo estudada como nutrientes, hoje é classificada na área de alimentos funcionais (FUNCTIONAL FOODS, 1994). Esses estudos têm aumentado em razão das diferentes propriedades, dentre elas anticarcinogênicas e antioxidantes.

Sua ação, como antioxidante, tem sido também atribuída à similaridade estrutural com a vitamina E, que age como antioxidante em sistemas lipídicos, reagindo com O_2^- e radicais peroxil lipídicos, podendo formar também complexos com o ferro, impedindo a formação de radicais de oxigênio ativos. Protegem, também, a vitamina C, pois, essa, em presença de íons Fe^{++} , pode formar o ascorbato (STRYER, 1995). Estudos realizados com os flavonóides quercetina (3), morina (4), miricetina (2), kaempferol (1), ácido elágico (6) e ácido tânico (7) comprovaram que eles possuem pronunciada atividade antioxidante (DAS e RAMANATHAN, 1992).

Estudos em culturas de células indicam que os flavonóides inibem a oxidação de LDL por macrófagos e pode ser um composto antiaterosclerótico natural presente nas dietas (DE WALLEY et al., 1990).



6- ácido elágico



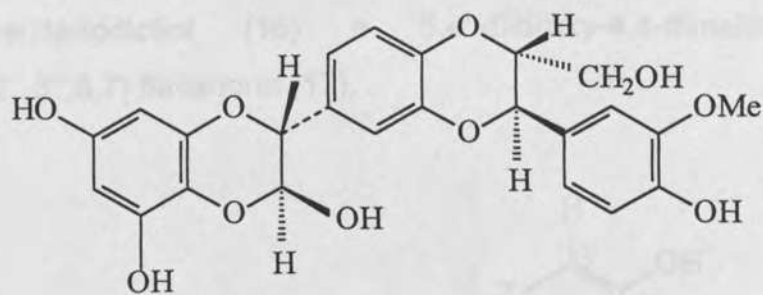
7- ácido tânico

KINSELLA et al. (1993) e FRANKEL et al. (1993) afirmam que o principal papel dos flavonóides decorre da sua ação antioxidante, especialmente contra a oxidação dos ácidos graxos que resultam em formação de radicais livres (peróxido e hidroperóxido), responsáveis por fenômenos aterogênicos e trombogênicos. Esses autores mencionam uma série de perturbações metabólicas e tissulares que resultam comprovadamente da oxidação de lipídeos, tais como: alterações de funções relacionadas com membranas (enzimas, receptores, permeabilidade); polimerização de proteínas; mutações no DNA; modificações da função dos macrófagos; aterogênese; alteração das funções das plaquetas e alteração da "cascata do ácido araquidônico".

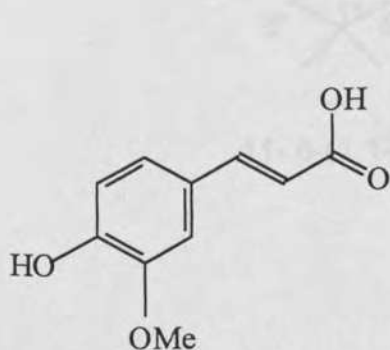
Os mesmos autores afirmam ainda que os fenóis podem agir como antioxidantes ativos, doando hidrogênio aos radicais livres, e como preventivos, impedindo a peroxidação de lipídeos e inibindo enzimas oxidativas (fosfolipase A2, ciclooxigenase e a lipoxigenase). Além disso, os fenóis podem atuar como protetores e regeneradores dos antioxidantes primários do organismo como o ácido ascórbico (vitamina C), o tocoferol (vitamina E) e o β -caroteno (vitamina A). Assim, o consumo contínuo e moderado de vinho, bem como a ingestão de frutos e vegetais, contendo esses

antioxidantes fitoquímicos podem, efetivamente, inibir as reações oxidativas que apresentam efeitos deletéricos aos tecidos e, pelo menos, retardam os fenômenos fisiopatológicos da aterosclerose e da trombose.

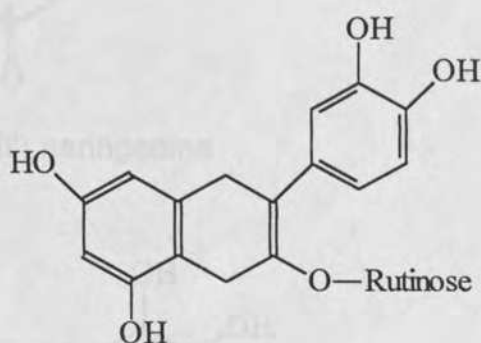
Fenóis e flavonóides, além de sua propriedade antioxidante em processos carcinogênicos, também teriam ações inibidoras em experimentos realizados com animais, onde foi induzido o câncer (SHUGAR e KAO, 1984).



8- silimarina



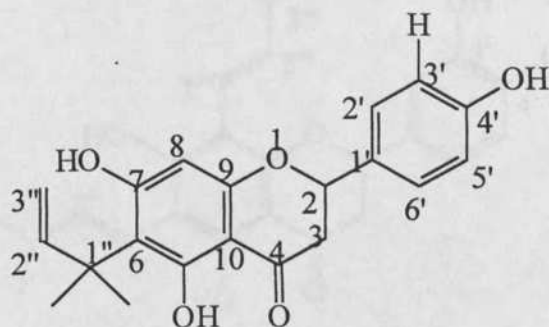
9- ácido ferúlico



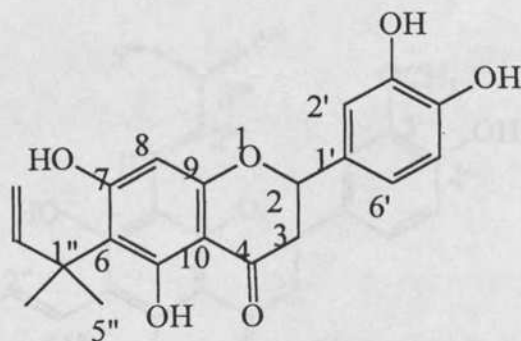
10- rutina

KENNETH e ATWAL (1995) estudou o efeito de uma dieta à base de flavonóides como a quercetina (3), morina (4), rutina (10) e silimarina (8), um composto fenólico, ácido ferúlico (9), e vitamina E, sobre a composição lipídica dos tecidos de frangos alimentados com pouca vitamina E e ácido graxo essencial (EFA). A suplementação da dieta com vitamina E não influenciou os lipídeos dosados no plasma, fígado e músculos do peito. Similarmente, o ácido ferúlico não teve efeito sobre os lipídeos, mas a quercetina (3) e a morina (4) tiveram efeito redutor nos níveis de ácidos graxos: 18:1 e 20:3 n-9 (indicador de deficiência de EFA) e aumentou os ácidos graxos 18:2 n-6, 20:4 n-6,n-6 total.

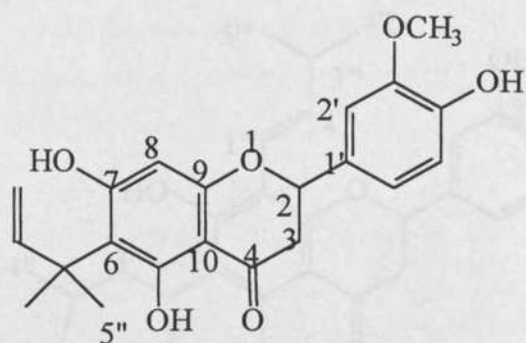
SEO et al. (1997) isolaram cinco flavanonas preniladas das folhas de *Monotes Engleri* que manifestaram atividade citotóxica em linhagens de células humanas cancerosas. Três dessas substâncias são novas, 6-(1,1- dimetilalil) naringenina (11), 6-(1,1- dimetilalil) eriodictiol (12) e 3'-O-metil-6-(1,1- dimetilalil) eriodictiol (13); com duas outras já conhecidas, 6,8,diprenileriodictiol (14) e hiravanona (15). Adicionalmente, duas novas flavanonas, mas não-citotóxicas, foram isoladas, 6-[(2R/S)-hidroxi-3metil-3butenil]-8-prenileriodictiol (16) e 5,4'-diidroxy-4,4-dimetil-5''-metil-5''H-diidrofurano[2'',3'',6,7] flavanona (17).



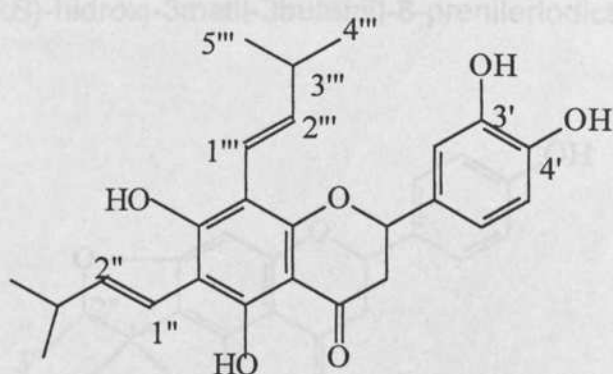
11- 6-(1,1- dimetilalil) naringenina



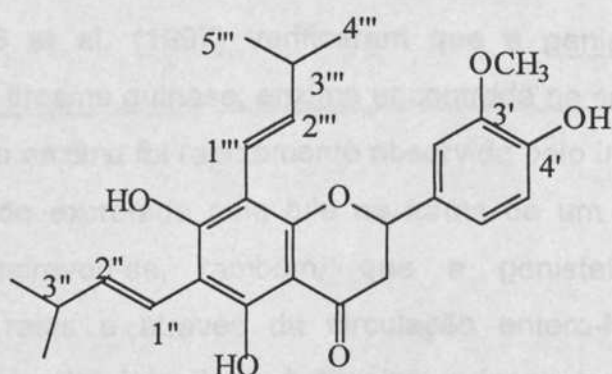
12- 6-(1,1- dimetilalil) eriodictiol



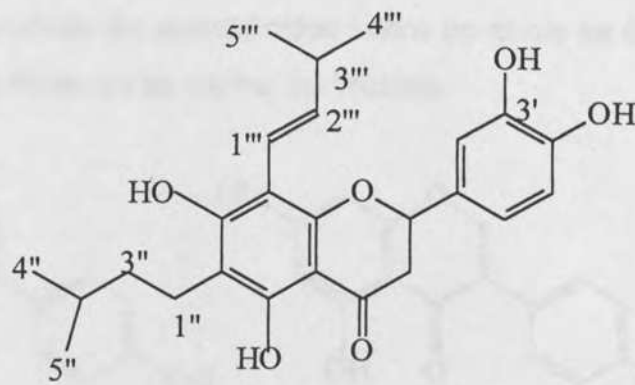
13- 3'-O-metil-6-(1,1- dimetilalil) eriodictiol



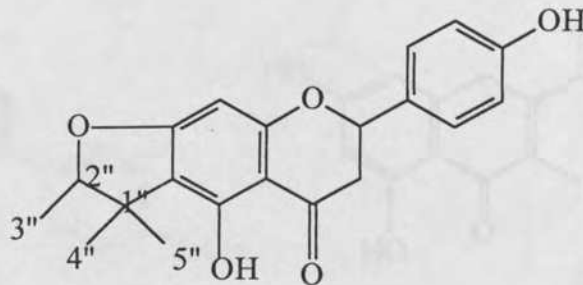
14- 6,8,diprenileriodictiol



15- hiravanona



16- 6-[(2RS)-hidroxi-3metil-3butenil]-8-prenileriodictiol

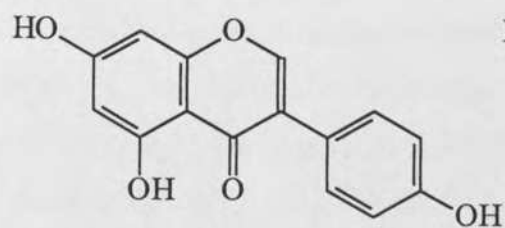


17- 5,4'-diidroxi-4,4-dimetil-5''-metil-5''H-diidrofurano[2'',3'',6,7] flavanona

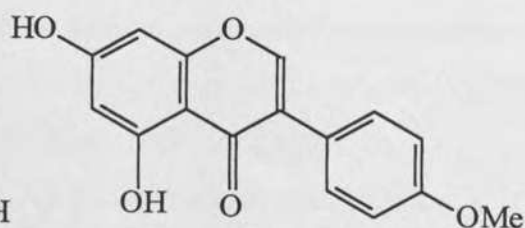
SFAKIANOS et al. (1997) verificaram que a genisteína (18) é um potente inibidor da tirosina quinase, enzima encontrada na soja. Foi observado que, em ratas, essa enzima foi rapidamente absorvida pelo intestino, passando pelo fígado e sendo excretada pela bile na forma de um conjugado 7-O-β-glicuronídeo. Comprovou-se, também, que a genisteína é altamente biodisponível em ratas e através da circulação entero-hepática pode se acumular no trato gastro intestinal. A tirosina quinase tem efeitos sobre o receptor de insulina. A atividade da tirosina quinase sobre o receptor de insulina permite controlar as divisões celulares.

A ligação da tirosina quinase com o receptor de insulina forma um complexo com atividade similar à da proteína quinase na fosforilação de proteínas. Assim, o receptor de insulina adquire a capacidade de auto fosforilar-se e fosforilar várias proteínas celulares. Existe uma controvérsia

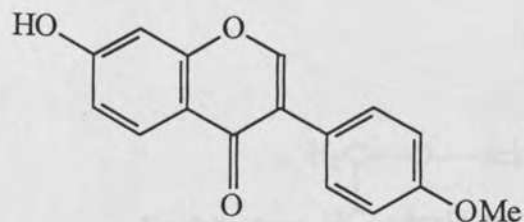
sobre a natureza dos resíduos de aminoácidos sobre os quais se fixa o grupo fosfato. Estudos indicam tratar-se da serina ou tirosina.



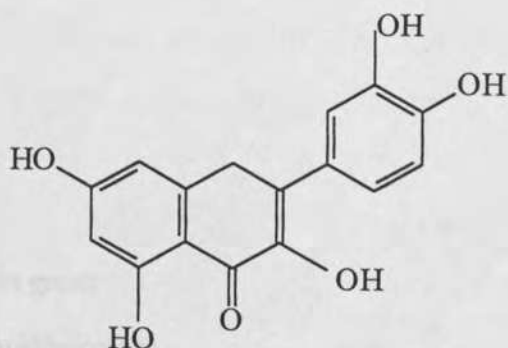
18- genisteína



19- biochanina-A



20- formonometina



21- cianidol

NAKAGAWA et al. (1975) isolaram duas isoflavonas, biochanina-A (19) e formonometina (20) dos grãos de *Cicer Arietanum* e mostraram suas propriedades hipolipidêmicas, quando a hiperlipidemia foi induzida por Tritron WR-1339, em ratos machos albinos, que receberam o extrato da planta ou os compostos purificados.

GRYGLEWSKI et al. (1987) estudaram o efeito dos flavonóis quercetina (3) e rutina (10) e das flavanas como o cianidol (21) na peroxidação lipídica não-enzimática. Esses pesquisadores correlacionaram a atividade antitrombocítica dos flavonóides à sua propriedade antioxidante. Verificaram, também, que esses compostos inibem a atividade da lipoxigenase, ciclooxigenase e da fosfolipase A_2 , como demonstrado na Figura 8. O cianidol apresentou ação antitrombocítica pois ativa a aderência de plaquetas no endotélio vascular gerado pela peroxidação lipídica.

AFANAS et al. (1989) observaram que a curcumina (3) e a quercetina (3) foram inibidores mais efetivos no sistema de peroxidação lipídica dependente de ferro e foram quaternários dos íons ferro com formação de complexos inativos e incapazes de iniciar a peroxidação lipídica. Ambos são capazes de suprir os estágios de oxidação e assim evitar a formação de radicais livres e formação do radical (hidroxil) na reação de Fenton e a formação de radicais peróxido.

HOLLMAN et al. (1995) relatam que a quercetina na dieta previne a oxidação das LDL *in vitro*, pois ela é um antioxidante. Entretanto, a absorção de quercetina (3) em humanos não tem sido totalmente esclarecida. Verificou-se, ainda, que, em alguns pacientes, a excreção de quercetina (3) e seus metabólitos foi de 95% do que foi absorvido. Em humanos, a sua absorção aumenta muito com moléculas de glicose.

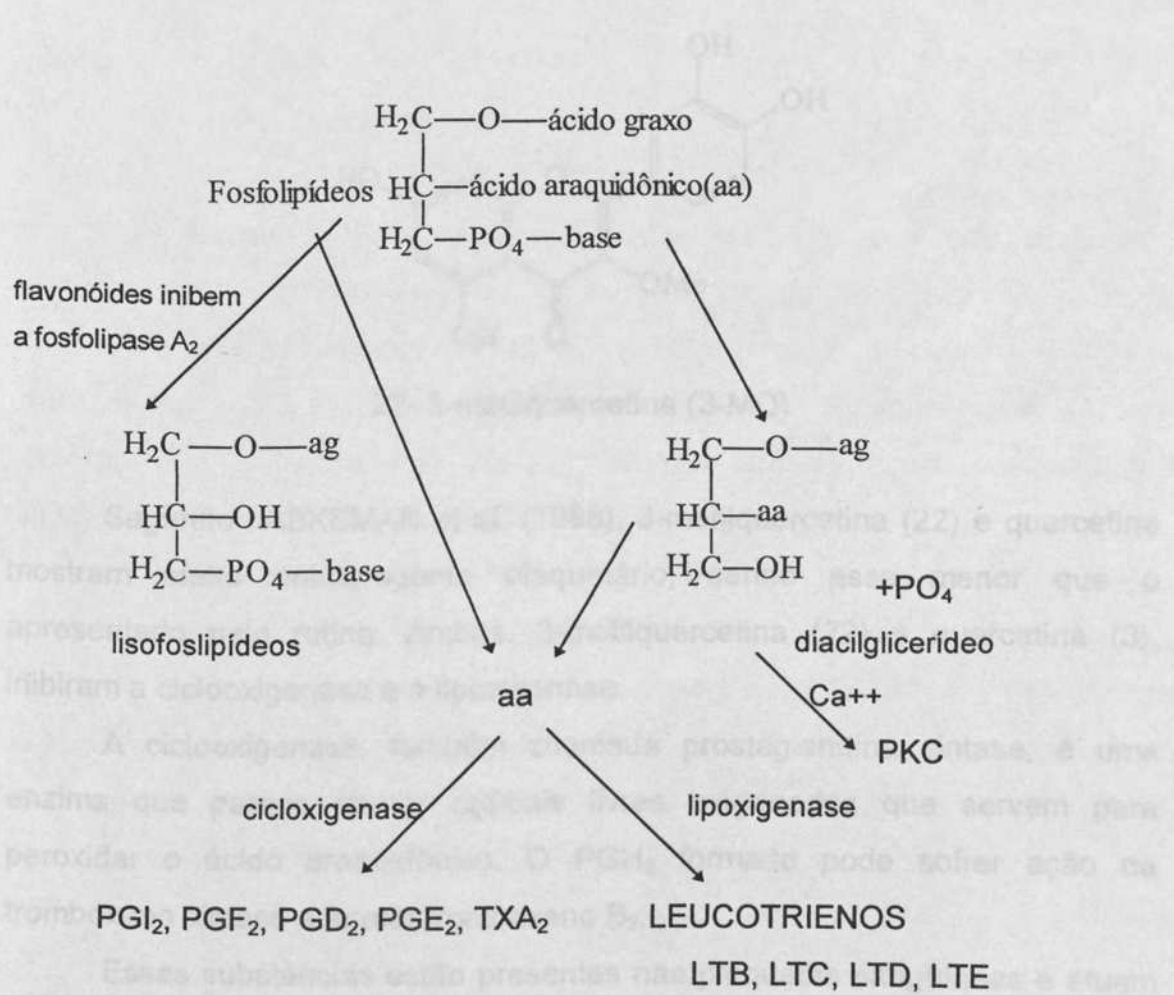
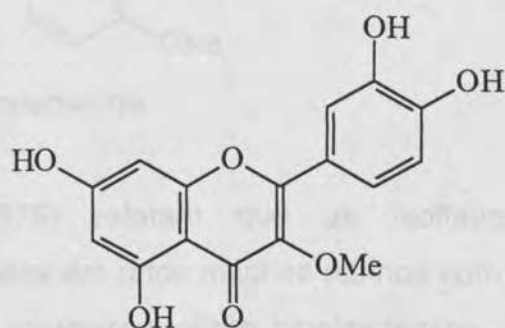


Figura 8 - Modelo do metabolismo de fosfolípidos e ácido araquidônico.

AFANAS et al. (1989) observaram que a rutina (10) e a quercetina (3) foram inibidores mais efetivos no sistema de peroxidação lipídica dependente de ferro e foram quelantes dos íons ferro com formação de complexos inertes incapazes de iniciar a peroxidação lipídica. Ambas são capazes de suprimir os estágios do processo de formação dos radicais livres; a formação do radical (hidroxil) na reação de Fenton, e a formação de radicais peróxidos.

HOLLMAN et al. (1995) relatam que a quercetina na dieta previne a oxidação das LDL *in vitro*, pois ela é um antioxidante. Entretanto, a absorção de quercetina (3) em humanos não está totalmente esclarecida. Verificou-se, ainda, que, em alguns pacientes, a média da excreção de quercetina (3) e seus conjugados na urina foi de 0,5% do que foi absorvido. Em humanos, a sua absorção aumenta, quando conjugada com molécula(s) de glicose.



22- 3-metilquercetina (3-MQ)

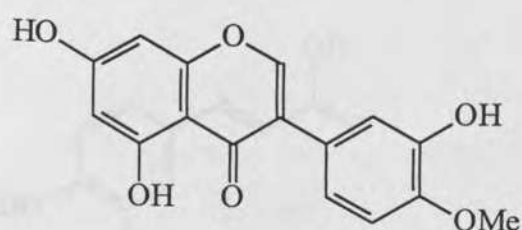
Segundo LAEKEMAN et al. (1986), 3-metilquercetina (22) e quercetina mostram efeito antiagregante plaquetário, sendo esse menor que o apresentado pela rutina. Ambas, 3-metilquercetina (22) e quercetina (3), inibiram a ciclooxigenase e a lipoxigenase.

A ciclooxigenase, também chamada prostaglandina sintase, é uma enzima que parece formar radicais livres oxigenados que servem para peroxidar o ácido araquidônico. O PGH₂ formado pode sofrer ação da tromboxano sintase e formar tromboxano B₂.

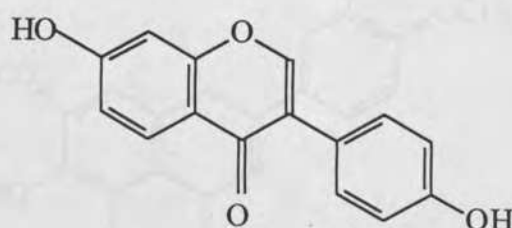
Essas substâncias estão presentes nas plaquetas sangüíneas e atuam para a defesa do organismo. Em particular, em caso de lesões da parede vascular, existe uma enzima chamada tromboxano sintetase que causa a

formação de tromboxano A₂ e tromboxano B₂. As plaquetas fornecem PGH₂ também a outras células. Essas sintetizam grandes quantidades dos endoperóxidos e os armazenam. São ativadas quando entram em contato com a membrana basal dos vasos, normalmente recoberta por células endoteliais, que transmitem a PGH₂ a células musculares lisas. Essas, por sua vez, utilizam a PGH₂ como precursores de prostaciclina PGI₂ (BOREL et al., 1989).

As prostaciclina (formadas nas células endoteliais e musculares lisas) inibem a adesão plaquetária, estimulando o sistema dependente de AMP_c em plaquetas.



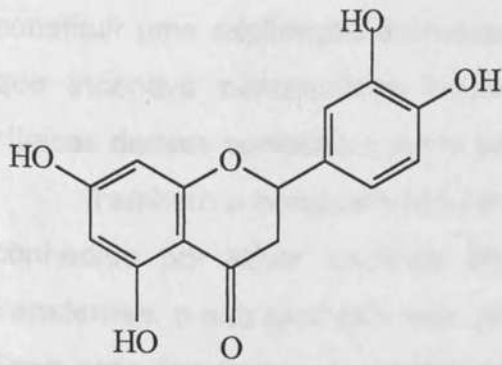
23- pratenseína



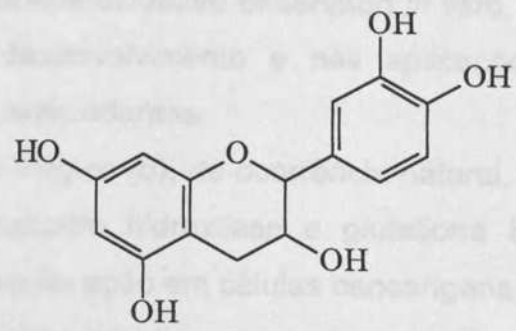
24-daidzeína

SHARMA (1979) relatam que as isoflavonas encontradas em leguminosas, e testadas em ratos machos albinos com hiperlipidemia induzida pelo triton-WR1339, mostraram efeito hipolipidêmico. A biochanina A (19), a formometina (20) e a pratenseína (23) mostraram ter atividade hipolipidêmica, enquanto a daidzeína (24) não a mostrou, quando foram administradas purificadas (individualmente) por intubação gástrica.

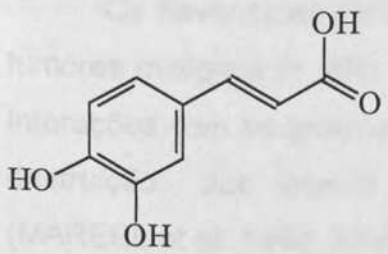
FRAGA et al. (1987) verificaram que o eridictiol (25), a catequina (26), a miricetina (2), o ácido caféico (27), o 5,6,3'-triidroxi -7,4'- dimetoxiflavona (28), o Kaempferol (1), a quercitrina (29), o 3-metoxi galangina (30) *in vivo* e *in vitro* apresentaram-se como antioxidantes. Essas substâncias são promissoras na proteção da peroxidação lipídica e servem como mediadoras de radicais livres em células que sofrem injúrias.



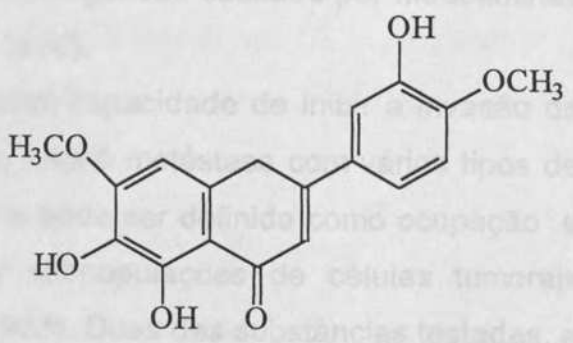
25- eridictiol



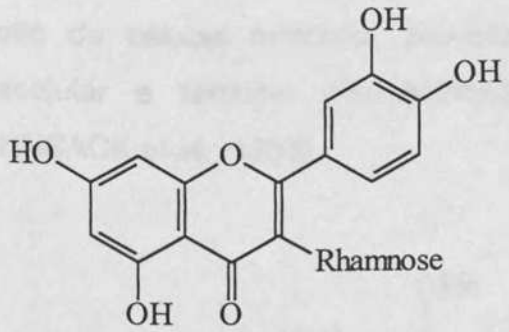
26- catequina



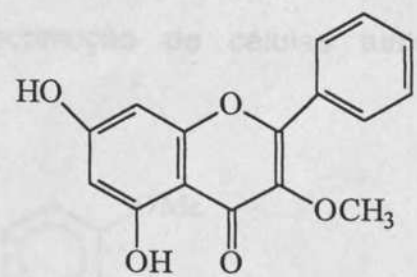
27- ácido caféico



28- 5,6,3'-triidroxi-7,4'-dimetoxiflavona



29- quercitrina



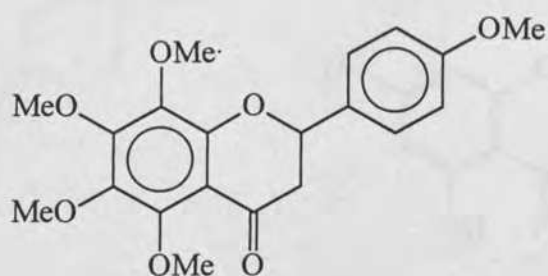
30- 3-metoxi galangina

MOREL et al. (1993) comprovaram o efeito citoprotetor dos flavonóides catequina (26) e quercetina (3) em culturas de hepatócitos. Foi considerado também o seu efeito na prevenção da peroxidação lipídica na presença de ferro. A atividade citoprotetora da catequina, quercetina e diosmetina pode decorrer de sua excelente propriedade antioxidativa e também por um efetivo poder quelante com o Fe^{++} (na peroxidação dependente do mesmo). Isso pode

constituir uma explicação do mecanismo antiperoxidativo observado *in vitro*, o que incentiva perspectivas futuras no desenvolvimento e nas aplicações clínicas desses compostos como potentes antioxidantes.

Também o composto fenólico ácido elágico (6), de ocorrência natural, é conhecido por ativar enzimas do tipo epóxido hidroxilase e glutathione S-transferase, o que explica o seu mecanismo de ação em células cancerígenas. Essa ação faz com que o ácido elágico, além de ativar as enzimas, tenha a habilidade de inibir também a formação de adutos de DNA encontrados em animais experimentais que tiveram a carcinogênese causada por nitrosaminas e benzopiranos (MANDAE e STONER, 1990).

Os flavonóides também apresentam capacidade de inibir a invasão de tumores malignos *in vitro*. Essa invasão leva à metástase com vários tipos de interações com os tecidos hospedeiros e pode ser definida como ocupação e destruição dos tecidos normais por subpopulações de células tumorais (MAREEL et al., 1982; BRACKE et al., 1985). Duas das substâncias testadas, a catequina (26) e a tangerentina (31), podem se ligar à laminina e, dessa maneira, impedir a invasão de células tumorais. A laminina (uma das moléculas da matriz extracelular) exerce um papel importante durante a adesão de células tumorais, provocando a quebra proteolítica da matriz extracelular e também influenciando a locomoção de células tumorais (BOHNSACK et al., 1985).

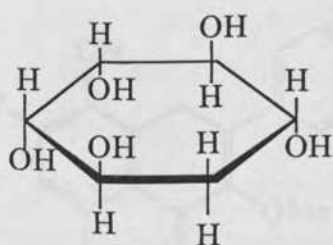


31- tangerentina

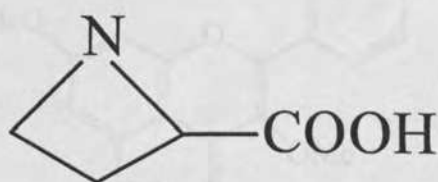
Essa classe de compostos mostra efeitos desses como inibidores da promoção de tumores. Ensaios realizados com ratos, nos quais foram induzidas as formações de tumores por 7,12-dimetil benzo[α] antraceno

[DMBA] e 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA), evidenciaram que a aplicação de 5 μ mol de flavonóide + 2,5 μ g de TPA resultaram nas seguintes percentagens de inibição do número de papilomas em ratos: 56% quando se usou kaempferol (1); 58% para quercetina (3); e 45% para rutina (10) (YASUKAWA e TAKIDO, 1987; YOUNG et al., 1983).

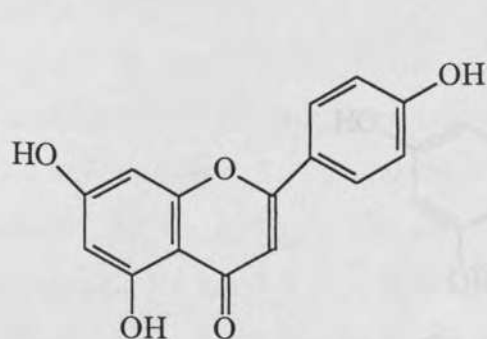
As raízes de *Polygonatum odoratum* (mill), uma planta medicinal utilizada na China, demonstraram propriedades como efeito sobre o hipertireoidismo e a hipertensão. Os constituintes químicos isolados dessa planta foram kaempferol (1), quercitol (32) e azetidina-2 ácido carboxílico (33). Extratos dessa raiz apresentaram efeito redutor nos níveis de triacilgliceróis e colesterol, diminuindo, desse modo, o processo aterosclerótico (Chin Chow, 1977, citado por FUNCTIONAL FOODS, 1994)



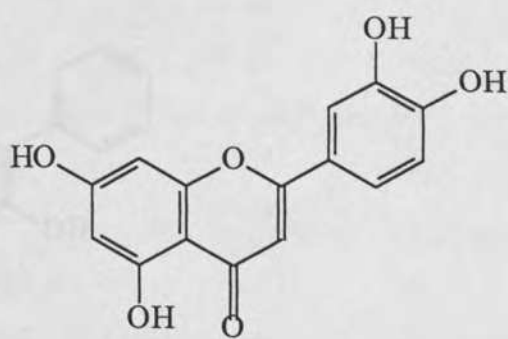
32- quercitol



33- azetidina 2 ácido carboxílico



34- apigenina

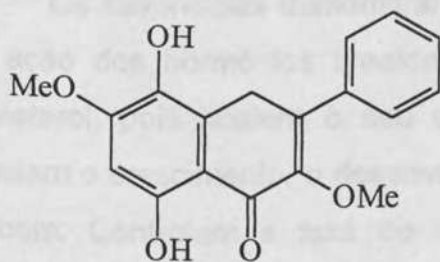


35- luteolina

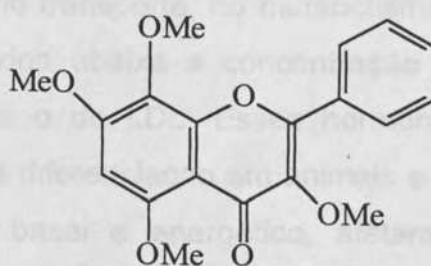
O extrato de camomila (*Matricaria chamomilla*) evidenciou propriedades antiinflamatórias e efeitos imunoestimulantes, por conter os seguintes flavonóides: apigenina (34) e luteolina (35) (GLOWANIA et al., 1987).

Vários autores relatam que em *Piperita* L. (hortelã pimenta) estão presentes flavonóides e relatam seus efeitos no relaxamento muscular (TADDEI et al., 1988; RESS et al., 1979).

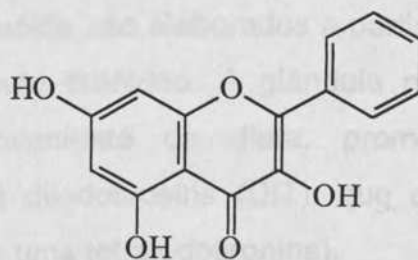
Testes farmacológicos, envolvendo a *Achyrocline saturoides* (macela), mostram suas propriedades analgésicas, antiinflamatórias, antimutagênicas, anti-sépticas, antiespasmódicas, antivirais, hipoglicêmicas, imunoestimulantes e relaxante muscular. Essas propriedades têm sido atribuídas à presença dos fitoquímicos cumarinas, compostos fenólicos e flavonóides com 5-8 dihidroxi, 3-7 dimetoxi flavona (36); 3-5-7-8 tetrametoxi flavona (37), luteolina (35), galangina (38), 3-metoxi galangina (30), quercetagenina (39), quercetina (3), 3-metoxi quercetina, scoparol (40) e scoparona (41) (DE ALMEIDA, 1993; SIMÕES, 1988; ABDEL-MALEK, 1996).



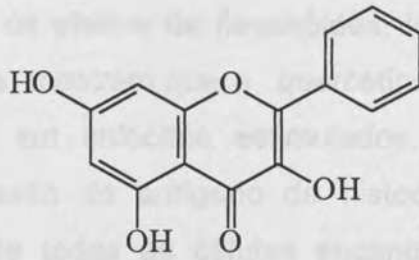
36- 5,8-diidroxi -3,7- dimetoxi flavona



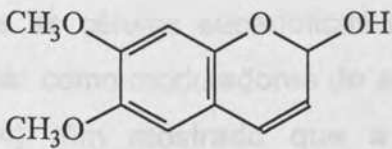
37- 3,5,7,8-tetrametoxi flavona



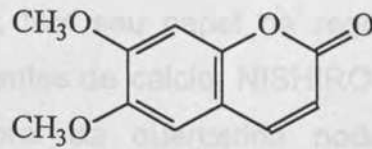
38- galangina



39- quercetagenina



40- scoparol



41- scoparona

Os flavonóides demonstraram efeitos no transporte, no metabolismo e na ação dos hormônios tireoideanos. A tiroxina abaixa a concentração de colesterol, pois acelera o seu catabolismo e o do LDL. Esses hormônios regulam o crescimento, o desenvolvimento e a diferenciação em animais e no homem. Controlam a taxa de metabolismo basal e energético, afetam a temperatura corporal, e exercem ação sobre as rotas de catabolismo para produção de energia. Os flavonóides atuam inibindo a enzima 5' deiodinase (que catalisa a bioativação do T₄) (KÖHRLE et al., 1986a, 1986 b). Os hormônios isolados da tireóide são elaborados a partir da tirosina pelo epitélio de revestimento do folículo tireóideo. A glândula possui a capacidade de seqüestrar o iodo, proveniente da dieta, promovendo a síntese de monoiodotirosina (MIT) e diiodotirosina (DIT), que dão origem às tironinas (triiodotironina e tiroxina e uma tetraiodotironina).

A inclusão do átomo de I no C₅ exalta a atividade hormonal, e é diminuída em C₅. No hipotireoidismo, ocorre hipocolesterolemia, e no hipertireoidismo congênito ocorre hipercolesterolemia (BACILA, 1980). A ação dos hormônios tireoideanos no metabolismo lipídico estão ilustradas na Figura 19.

Pesquisas sobre os efeitos de flavonóides, inibindo reversivelmente a proliferação de linfócitos, mostram que a quercetina e tangerentina inibem o transporte de timidina em linfócitos estimulados. Os flavonóides podem também inibir a expressão do antígeno de histocompatibilidade (antígeno situado na superfície de todas as células encontrado no soro sanguíneo, quando ocorre rejeição em transplantes de órgãos) (BOREL et al., 1989; SCALA e OPPENHEIN, 1983; SCHARTZ et al., 1982).

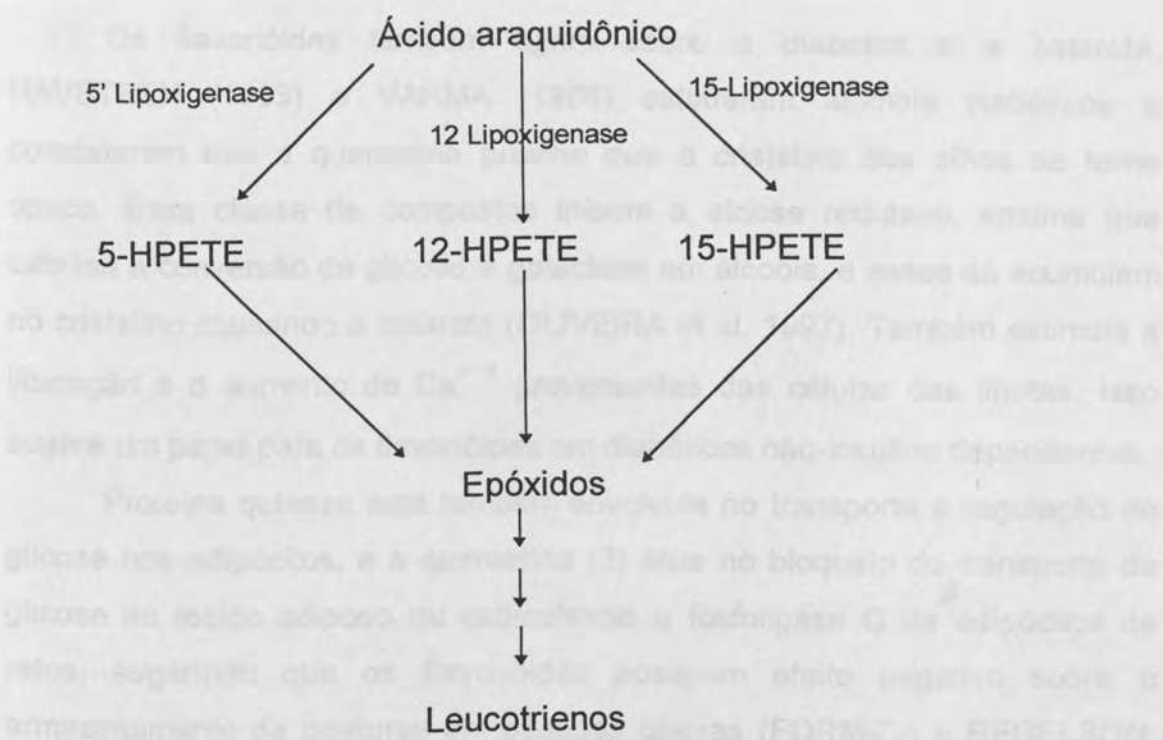
A calmodulina, proteína que serve como um sensor de cálcio em quase todas as células eucarióticas (STRYER, 1995), tem seu papel na regulação celular como moduladores de enzimas dependentes de cálcio. NISHIRO et al. (1984) têm mostrado que a ação antitumoral da quercetina pode ser expressada pela inibição praticamente total da calmodulina.

A calmodulina atua como modulador positivo em enzimas como adenil ciclase, fosfodiesterase, proteínas quinase e proteínas contráteis. Em células tumorais, a síntese do colágeno é bastante aumentada, e essa proteína pode se ligar a ions Ca^{++} , sendo modulada positivamente pela calmodulina. A ação inibidora da calmodulina impediria sua ação sobre diversas enzimas citadas anteriormente, bem como impediria a síntese de certos tipos de colágeno ligados ao cálcio em processos tumorais (KAKIUCHI et al., 1982).

Tem sido evidenciado que dietas ricas em flavonóides podem prevenir ou diminuir processos inflamatórios. A quercetina (3) e outros flavonóides inibem a síntese de leucotrienos (Figura 9) e a liberação de histaminas (GREENFIELD et al. 1993; RAMPTON e COLLINS, 1993).

Os flavonóides, como a quercetina, podem também promover o relaxamento muscular, atuando no metabolismo do ácido araquidônico, resultando em um aumento de propanóides (FURCHGOTT e VONHOUTTE, 1989).

Mecanismos alternativos explicam os efeitos dos flavonóides nas células musculares; implicando em decréscimo do transporte de Ca^{++} , inibição da atividade da ciclo nucleotídeo fosfodiesterase e inibição da proteína quinase (DUARTE et al., 1993 a, b).



Fonte : GREENFIELD et al. (1993).

Figura 9 - Formação de leucotrienos - HPETE-Hidroperóxidos.

FERRIOLA et al. (1989) verificaram que os flavonóides kaempferol (1), luteolina (35) e quercetina (3) potencializaram os efeitos de isopresina e nitroprussiato de sódio como vasodilatadores. Esses efeitos também foram observados por DUARTE et al. (1993b).

A quercetina aumenta a concentração de AMP_c, inibindo a atividade da fosfodiesterase cíclica. DUARTE et al. (1993b) mostraram que o relaxamento muscular causado pela ativação da proteína quinase foi realizada, implicando em uma correlação entre o potencial vasodilatador dos flavonóides e a constrição aórtica. Esse estudo é importante, pois se o flavonóide aumenta a concentração de AMP_c, sendo esse um segundo mensageiro de diversos hormônios, afeta a atividade de diversas enzimas. Além disso, o AMP_c age como modulador positivo da proteína quinase, enzima que ativa a lipase do tecido adiposo, fazendo com que aumente a hidrólise dos triacilgliceróis. Portanto, esse é um dos mecanismos de ação de flavonóides sobre lipídeos bastante importante (BAGAVAN, 1977).

Os flavonóides também agem sobre a diabetes e a catarata. HAVSTEEN (1983) e VARMA (1986) estudaram animais diabéticos e constataram que a quercetina previne que o cristalino dos olhos se torne opaco. Essa classe de compostos inibem a aldose redutase, enzima que catalisa a conversão de glicose e galactose em álcoois, e esses se acumulam no cristalino causando a catarata (OLIVEIRA et al. 1997). Também estimula a liberação e o aumento de Ca^{++} provenientes das células das ilhotas. Isso sugere um papel para os flavonóides em diabéticos não-insulino dependentes.

Proteína quinase está também envolvida no transporte e regulação de glicose nos adipócitos, e a quercetina (3) atua no bloqueio do transporte de glicose no tecido adiposo ou estimulando a fosfolipase C de adipócitos de ratos, sugerindo que os flavonóides possuem efeito negativo sobre o armazenamento de gorduras em pessoas obesas (FORMICA e REGELSON, 1995).

2.10. Medicamentos usados no controle do colesterol

2.10.1. Efeitos de fármacos no controle do metabolismo lipídico

Redutores de lipídeos podem ser necessários, quando não se obtém êxito no tratamento dietético e no controle dos fatores de risco, quando outros fármacos não são responsáveis pela condição, e quando não há doenças predisponíveis (hipotireoidismo, diabetes melitus, síndrome nefrótica, mediante hipertrigliceridemia, ingestão alcoólica excessiva ou obesidade). De modo geral, os redutores de lipídeos freqüentemente causam efeitos colaterais, em geral subjetivos, mas às vezes mais importantes, quais sejam eles os seqüestradores de ácidos biliares, o ácido nicotínico, as estatinas, os fibratos e o probucol.

Um conceito interessante lançado recentemente é o de que os redutores de lipídeos podem agir de maneira que vão além da regressão da placa ateromatosa, como, por exemplo, melhorando a função endotelial,

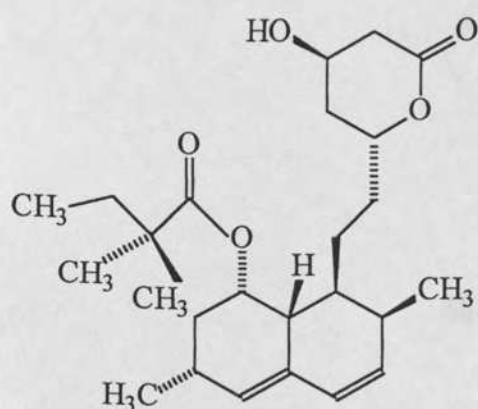
estabilizando as plaquetas ou causando a redução do fibrinogênio (OPIE, 1997).

2.10.2. Estatinas

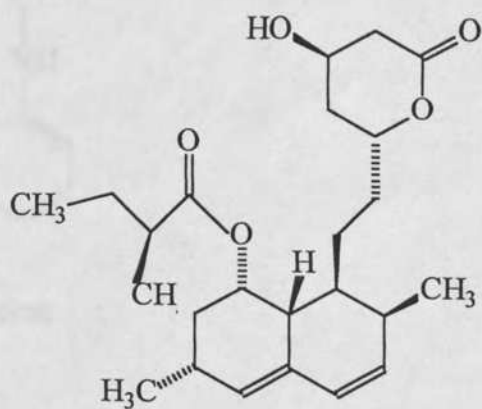
As estatinas inibem parcialmente a HMG-CoA redutase, levando à diminuição da síntese intracelular do colesterol, ao aumento da formação dos receptores de LDL e à diminuição das VLDL. Diminuem a produção de apo B e aumentam o catabolismo das LDL. Sua ação sobre a Lp(a) não foi demonstrada.

Delas resultam diminuições do colesterol total (30%) e do LDL-c (20,40%); dos triacilgliceróis e das VLDL (em torno de 20%); e possível elevação do HDL-c (até 10%) (FONSECA et al., 1996).

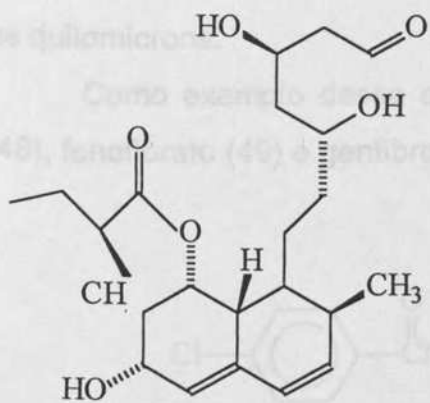
Como exemplo dessa classe pode-se citar a sinvastatina (42), a lovastatina (43), a pravastatina (44), a fluvastatina (45) e a atorvastatina (46).



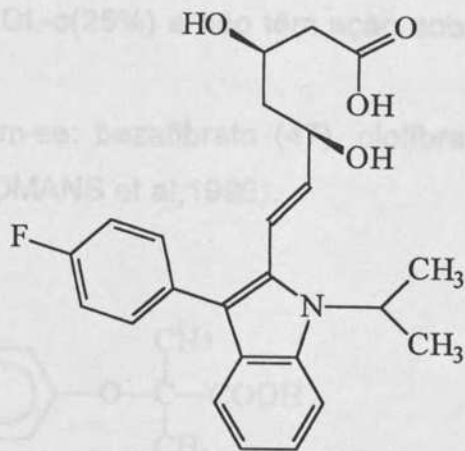
42- sinvastatina



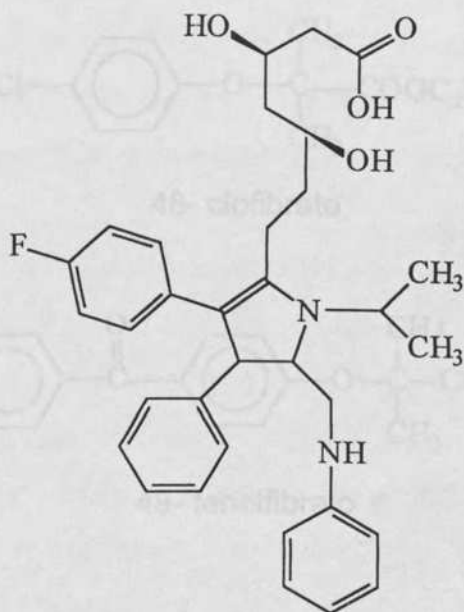
43- lovastatina



44- pravastatina



45- fluvastatina



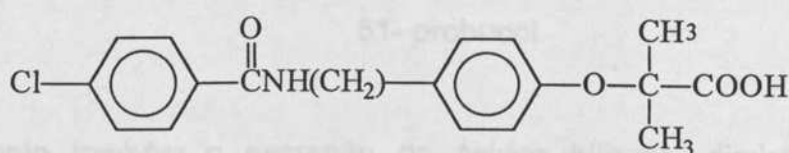
46- atorvastatina

2.10.3. Fibratos

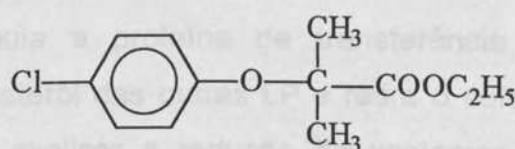
Os fibratos diminuem a síntese hepática das apo-B e das VLDL; aumentam a lipólise das VLDL e a remoção de seus remanescentes, em decorrência da maior atividade da LLP; aumentam a atividade dos receptores hepáticos para as LDL; e elevam o nível do HDL-c. São absorvidos rapidamente pelo intestino e excretados pela urina. Diminuem principalmente os níveis dos triacilgliceróis e das VLDL (até 70%) e também do colesterol total

e do LDL-c (até 20%). Elevam as taxas do HDL-c(25%) e não têm ação sobre os quilomícrons.

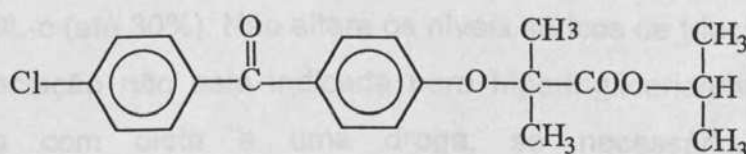
Como exemplo dessa classe destacam-se: bezafibrato (47), clofibrato (48), fenofibrato (49) e genfibrozil (50) (GOODMANS et al,1996).



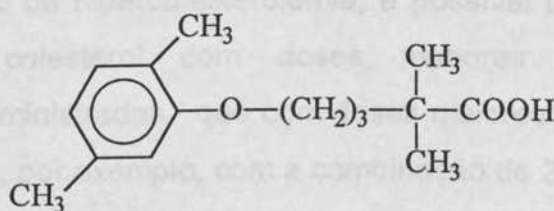
47- bezafibrato



48- clofibrato



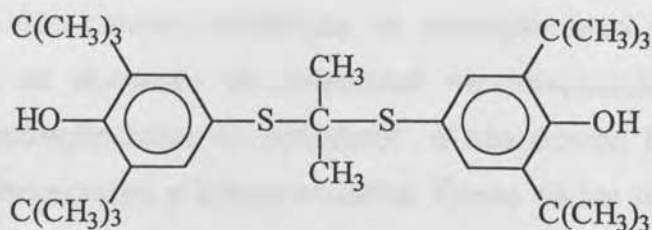
49- fenofibrato



50- genfibrozil

2.10.4. Probucol

Probucol não tem seu mecanismo de ação totalmente esclarecido. Possui efetiva ação antioxidante, diminui a absorção intestinal de colesterol e aumenta a captação das LDL, por via não mediada por receptores.



51- probucol

Aumenta também a excreção de ácidos biliares, diminui a síntese hepática e a excreção de LDL, diminui a síntese e aumenta o catabolismo de apo-AI e AII, estimula a proteína de transferência (CETP), aumenta a transferência do colesterol das outras LP e retira o colesterol da célula. Esta última ação poderia explicar a redução de xantomas. Também estimula a produção de apo-E.

Dessas ações, resultam a redução de colesterol total, de LDL-c (15 a 20%) e do HDL-c (até 30%). Não altera os níveis séricos de triacilgliceróis.

A associação não está indicada para hipertrigliceridemia em que se atua apenas com dieta e uma droga, se necessário. Porém, na hipercolesterolemia, às vezes precisa-se fazer associações de fármacos, obrigatoriamente com mecanismos de ações distintas para potencializar o efeito hipocolesterolemizante (SCHETMAN et al., 1993).

No tratamento de hipercolesterolemia, é possível obter o mesmo nível de redução do colesterol com doses menores de duas drogas, simultaneamente administradas, que com doses maiores de uma só droga. O mesmo efeito ocorre, por exemplo, com a combinação de 20 mg de Lovastatina e 5,0 mg de colestipol, comparada a 40 mg de Lovastatina em uso isolado (SHROTT et al., 1975; TONSTAD et al., 1993; DENKE et al., 1994).

BARNHART et al. (1989) verificaram que o probucol é uma droga com propriedades antioxidantes, que na presença de Cu^{++} previne a oxidação do LDL.

KESÄNIEMI e GRUNDY (1997) verificou o mecanismo de ação hipocolesterolêmico do probucol em humanos. Durante o tratamento, houve um decréscimo médio de 12% no colesterol, de 11% nas LDL e de 9% HDL. O

triacilglicerol não apresentou nenhuma alteração durante o período do tratamento. A droga não causou mudanças na excreção fecal de colesterol, nos ácidos biliares, na absorção de colesterol, na composição lipídica da vesícula biliar, na secreção biliar do colesterol e nos ácidos biliares ou na atividade da lipase lipoproteína e lipase hepática. Esses dados mostram que o probucol diminui o LDL por aumento de seu catabolismo. Esses efeitos parecem ser independentes de qualquer mudança no metabolismo do colesterol ou de ácidos biliares.

KOLETZKO et al. (1992) estudaram pacientes com hipercolesterolemia genética severa. Foram avaliados os efeitos de terapias em pacientes que receberam somente dieta e dieta combinada com a terapia de drogas, em crianças e adolescentes com aparente hipercolesterolemia de herança dominante. Os lipídeos no soro foram dosados antes do tratamento dietético. A dieta reduziu os níveis de colesterol em $11,7 \pm 1,9\%$ e colesterol-LDL $17,3 \pm 3,5\%$. Dieta combinada com colestiramina numa dose de 0,36 g/kg de peso corporal reduziu o colesterol total em $33,0 \pm 2,4\%$ e colesterol-LDL $37,5 \pm 4,3\%$. Ambos os tratamentos não tiveram efeito nos triacilgliceróis e no colesterol-HDL.

TAWARA et al. (1986) verificaram que, em ratos normais, o tratamento com probucol resultou na inibição da incorporação de $[C^{14}]$ -acetato no colesterol dos fígados durante a estimulação da incorporação no intestino grosso. Os resultados indicaram que a atividade da HMG-CoA redutase foi reduzida no fígado, mas decresceu no tecido intestinal dos ratos tratados. Naqueles que receberam colesterol e probucol, na dieta, não foi observado efeito na síntese do colesterol no fígado, e a síntese do colesterol extra-hepático não foi significativa, embora a tendência de inibição fosse normal em ratos, sendo estimulada naqueles que receberam a dieta com colesterol. Por outro lado, o tratamento com a droga resultou na aceleração da eliminação do derivado radioativo $[C^{14}]$ da circulação, resultando numa significativa excreção da radioatividade, do colesterol e de ácidos biliares, sem mudanças na composição lipídica da bile. A atividade da colesterol 7α - hidroxilase hepática foi aumentada pela droga. Essas descobertas indicam que o probucol abaixou

o colesterol sérico principalmente pelo aumento da excreção catabólica do colesterol pela bile.

FONSECA et al. (1996) relataram que o etofibrato (500mg/dia) foi administrado por 60 dias em humanos, analisando-se as modificações lipídicas induzidas (colesterol total e frações, e triacilgliceróis) e os efeitos sobre o fibrinogênio e a agregação plaquetária. Foram observadas reduções percentuais significantes das variáveis colesterol total (9,50%); colesterol-LDL (7,88%); triacilgliceróis (19,07%); colesterol total/colesterol-HDL (11,90%); colesterol-LDL/colesterol-HDL (10,20%); fibrinogênio (12,79%); agregação plaquetária com adrenalina (24,02%); com ADP 1 μ mol (-30,13%); e com ADP 3 μ mol (24,51%). Efeitos benéficos do etofibrato foram observados não somente sobre o perfil lipídico, mas, também, sobre variáveis de trombogenicidade, como o fibrinogênio e a agregação plaquetária.

RAMIRES et al. (1997) comprovaram os efeitos benéficos do genfibrozil e da lovastatina em indivíduos hipercolesterolêmicos, portadores de níveis elevados de lipoproteína (a) [Lp(a)]. Os pacientes foram sorteados para receber 1.200 mg/dia de genfibrozil ou 40 a 80 mg de lovastatina. O genfibrozil diminuiu o colesterol total (21%), o colesterol-LDL (26%), o triacilglicerol (48%), a Lp(a) (25%), e elevou o HDL-c (48%). A lovastatina diminuiu o CT (29%), o LDL-c (37%), o triacilglicerol (25%), porém, não alterou a Lp(a). A lovastatina apresenta algumas peculiaridades como efeitos marcantes sobre os triacilgliceróis, e o HDL, em relação aos fibratos convencionais, sendo indicado em quadros de hipercolesterolemia com altos níveis de LDL e triacilgliceróis, e baixos níveis de HDL (hipercolesterolemia familiar combinada).

BARRETTO (1997) relata um estudo com pacientes hipercolesterolêmicos associados a um ou mais fatores de risco. Nesse estudo, mostrou que a Pravastatina (10mg) associada à orientação dietética reduz os níveis de colesterol de risco, em média, em 30,9%, de colesterol-LDL em 32,5%, e de triacilgliceróis em 35,82%. Aumenta o colesterol-HDL em 13,46%, e a presença de fatores de risco não reduz a resposta hipolipemiante da droga.

Encontra-se em STUDY... (1997) que o tratamento com atorvastatina causa reduções de colesterol-LDL, quando comparado com outras drogas da mesma classe, segundo estudos recentes do Meeting Society European of Cardiology in Stockholm. De acordo com a United States National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), aproximadamente 80% dos pacientes com distúrbios nas artérias coronárias requerem uma redução de 30% no colesterol-LDL, obtido pelo Program U.S National Cholesterol Education Program. Atorvastatina promove uma redução de 30% no colesterol-LDL, em todas as dosagens. Nesse estudo, 10 mg de atorvastatina reduziu em média o LDL em 38%, sendo significativamente maior que 10 mg de sinvastatina (28%), pravastatina 20 mg (24%), lovastatina 20 mg (29%), fluvastatina 20 mg (17%). Adicionalmente à atorvastatina, 20 mg reduz LDL em 46%, como foi significativamente maior que a sinvastatina 20 mg (35%), pravastatina 40 mg (34%), lovastatina 40 mg (31%), fluvastatina 40 mg (23%).

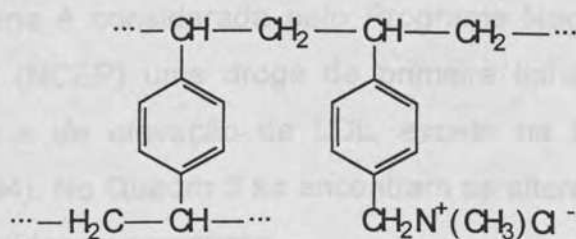
SCANDINAVIAN SIMVASTATINA SURVIVAL STUDY GROUP (1994) anuncia ter reunido provas científicas e médicas suficientes para autorizar pela primeira vez um novo tratamento que previne os acidentes vasculares cerebrais (AVC), em indivíduos que nunca haviam sofrido um AVC. Até agora, recorde-se, não existia uma profilaxia para o AVC, a principal causa de morte em Portugal. Os médicos apenas podiam tratar indivíduos que já haviam sofrido um AVC, anteriormente, procurando evitar um segundo acidente vascular cerebral. Esse novo tratamento, com a sinvastatina, destina-se a indivíduos com colesterol elevado ou a quem sofre de doença coronária, abrangendo tanto a prevenção do acidente vascular cerebral quanto do acidente isquêmico transitório (uma forma de mini-AVC). De acordo com os resultados dos Estudos 4S (Scandinavian Simvastatina Survival Study), após seis semanas de tratamento com sinvastatina, os 4.444 doentes envolvidos registraram reduções médias de 28% no colesterol total, de 38% no colesterol-LDL e de 15% nos triacilgliceróis, enquanto as lipoproteínas de alta densidade (HDL) aumentaram em 8%.

DAVIGNON (1986) evidenciou em experimentos a necessidade do tratamento de pacientes com hiperlipidemia. A terapia focaliza três áreas: controle concomitante dos fatores de risco da aterosclerose, redução dos

lipídeos na dieta, resposta a dietas inadequadas e administração de agentes que diminuem os lipídeos.

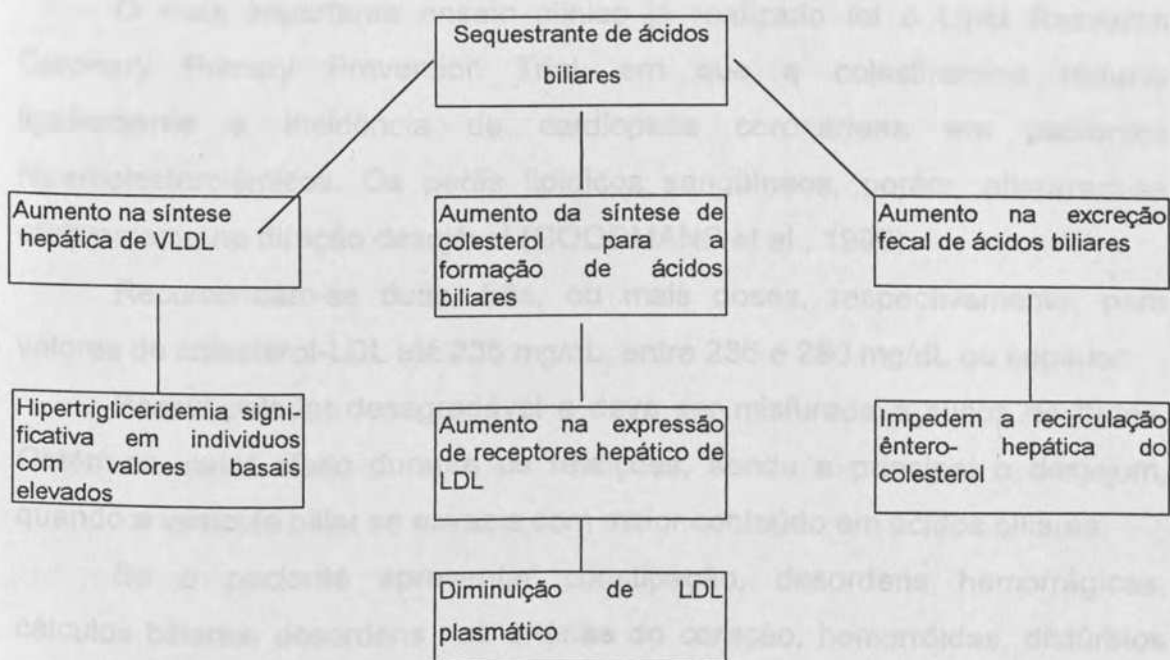
2.10.5. Colestiramina

A colestiramina é uma resina básica aniônica, que impede a absorção dos sais biliares e aumenta sua perda pelas fezes. A resina ligada a Cl^- troca o seu íon Cl^- pelo íon do ácido graxo formando um complexo resina-ácido biliar que é eliminado pelas fezes. Isso interrompe o ciclo entero-hepático e conduz a um aumento do catabolismo do colesterol para substituir a perda de ácidos biliares. Essa resina foi aprovada pela FDA em 1966. A colestiramina provoca diminuição na quantidade de colesterol nas células, sendo essencial para a regulação genômica da produção de receptores B-E, de alta afinidade às LDL, cuja velocidade de metabolismo é, então, rapidamente acelerada. Portanto, paradoxalmente, a droga aumenta a síntese corpórea de colesterol e reduz a colesterolemia pela diminuição da concentração das LDL (QUINTÃO e NAKANDAKARE, 1992).



52- colestiramina

A colestiramina pode aumentar os níveis de triacilgliceróis, pelo aumento na síntese hepática de VLDL. Esse aumento parece ser importante, apenas nos indivíduos com níveis basais de triacilgliceróis aumentados, podendo predispor uma síndrome de quilomicronemia (CROUSE III, 1987), conforme Figura 10, que ilustra o mecanismo de ação da colestiramina.



Fonte: LEITE (1994).

Figura 10 - Mecanismo de ação das resinas sequestrantes de ácidos biliares nos lipídeos plasmáticos.

A colestiramina é considerada pelo Programa Nacional de Educação sobre o Colesterol (NCEP) uma droga de primeira linha no tratamento de hipercolesterolemia e de elevação de LDL, exceto na forma homozigótica familiar (LEITE, 1994). No Quadro 3 se encontram as alterações causadas por colestiramina nos lipídeos plasmáticos.

Quadro 3 - Alterações causadas por colestiramina nos lipídeos plasmáticos

Colesterol total	Redução 20-25%
LDL	Redução 20-30%
VLDL	Aumento 5-20%

Fonte: LEITE (1994).

O mais importante ensaio clínico já realizado foi o Lipid Research Coronary Primary Prevention Trial, em que a colestiramina reduziu ligeiramente a incidência de cardiopatia coronariana em pacientes hipercolesterolêmicos. Os perfis lipídicos sanguíneos, porém, alteraram-se efetivamente na direção desejável (GOODMANS et al., 1996).

Recomendam-se duas, três, ou mais doses, respectivamente, para valores de colesterol-LDL até 235 mg/dL, entre 236 e 280 mg/dL ou superior.

Possui paladar desagradável e deve ser misturada a sucos de frutas. Obtém-se maior efeito durante as refeições, sendo a principal o desjejum, quando a vesícula biliar se esvazia com maior conteúdo em ácidos biliares.

Se o paciente apresentar constipação, desordens hemorrágicas, cálculos biliares, desordens nas artérias do coração, hemorróidas, distúrbios hepáticos ou renais, fenilcetonúria, úlcera estomacal, não é recomendável o uso de colestiramina.

JONES et al. (1984) relatam que 20 pacientes com hipercolesterolemia familiar (FH), onde não se tem obtido um nível de colesterol satisfatório somente com dieta, foram tratados com colestiramina. Em um período de seis meses, o colesterol total teve uma queda média de 16,4% com a colestiramina e 12,7% com probucol. A colestiramina produz uma redução de 17,4% na colesterol-LDL, mas não mudou significativamente a VLDL ou HDL, apresentando um decréscimo de 21,4% no colesterol HDL subfração HDL₂. A taxa de triacilgliceróis foi elevada em 29,6%, quando comparada ao nível normal. O probucol produziu uma queda de 11,7% no LDL-colesterol; 9,9% na VLDL; 10% no LDL-colesterol; 37% no HDL-subfração HDL₂; e os triacilgliceróis tiveram um decréscimo de 14%.

BASCOUL et al. (1990) verificaram que os níveis sorológicos de 7 α -hidroxicolesterol (7 α (OH)C) apresentaram decréscimo considerável em pacientes hipercolesterolêmicos tratados com colestiramina.

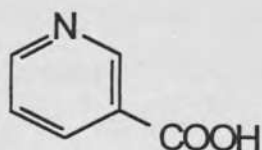
JACOB et al. (1992) relatam o efeito inibitório da pravastatina e da lovastatina sobre a HMG CoA em lipídeos, lipoproteínas e apolipoproteína, tendo sido estudadas em pacientes com hipercolesterolemia. Colesterol-LDL foi reduzido em ambos os tratamentos. Colesterol-HDL foi reduzido pela

lovastatina mas não pela pravastatina. A redução de triacilgliceróis, VLDL-triacilglicerol, VLDL-colesterol foi mais acentuada depois da lovastatina em relação à pravastatina. Diferenças foram basearam-se nos efeitos das combinações terapêuticas com as duas drogas sobre colesterol-HDL, triacilgliceróis plasmáticos, VLDL-triglicérides, VLDL-colesterol e apolipoproteínas.

LIACOURAS et al. (1993) estudaram o efeito e a complicação do uso da colestiramina em crianças com hipercolesterolemia familiar heterozigótica (FH) e hiperlipidemia familiar combinada (FCHL). Em ambos os grupos, colesterol total, LDL-colesterol e apolipoproteína B foram reduzidos depois do uso de colestiramina.

2.10.6. Ácido nicotínico

O ácido nicotínico e a nicotinamida são idênticos em suas funções como vitaminas, mas apenas o primeiro apresenta efeito cardiovascular, atuando como droga hipolipemiante, mas pouco tolerada, embora muito usada no exterior, principalmente nos USA (LEITE, 1994).

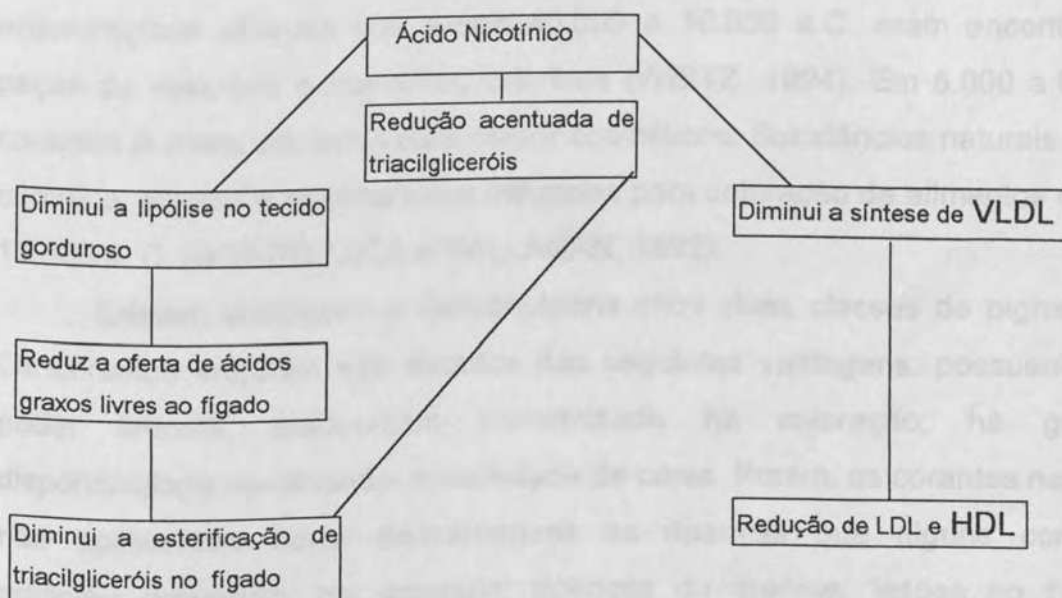


53- ácido nicotínico

Esse ácido foi o primeiro hipolipidêmico a reduzir a mortalidade global. É um composto barato e pode ser vendido sem receita médica (OPIE, 1997), sendo ativo em todos os tipos de hiperlipoproteinemia, com exceção do tipo I. Conforme mostra a Figura 11, inibe a secreção de lipoproteínas pelo fígado, de modo que as lipoproteínas de baixa densidade são reduzidas, incluindo o componente rico em triacilgliceróis (VLDL), levando à redução de LDL (Quadro 4) e IDL

Inibe a lipase hormônio sensível, intracelular, do tecido adiposo, diminuindo a liberação de ácidos graxos livres para o fígado e, conseqüentemente, a formação das VLDL; diminuem, também, a síntese de apo B e das LDL e a remoção das HDL e aumentam o catabolismo da Lp(a) (LEITE, 1994; OPIE, 1997; FONSECA, 1996). Dessa forma, a sua utilização plena promove acentuada redução nos níveis de triacilgliceróis, redução moderada nos níveis de colesterol e LDL-colesterol e ainda aumento substancial de HDL₂.

O mecanismo de ação do ácido nicotínico está resumido na Figura 11.



Fonte: LEITE (1994).

Figura 11 - Mecanismo de ação do ácido nicotínico.

Quadro 4 - Reduções atingidas pelo ácido nicotínico nos lipídeos plasmáticos

Colesterol total	Redução 20%
LDL- colesterol	Redução de 20%
HDL (HDL ₂)	Aumento de 30%
Triacilgliceróis	Redução até 80%

Fonte: LEITE (1994).

2.11. Corantes naturais

A cor é um fator decisivo no momento da escolha de um produto, uma vez que o primeiro contato da criança com o alimento é através dela (MASCARENHAS, 1997). Hoje, de modo geral, não se pensa em alimento sem associá-lo imediatamente à sua cor, que é um recurso indiscutível e de grande valor para a elaboração de um produto e de sua marca.

A história da cor poderia constituir um dos maiores capítulos da história da civilização (GOLDMAM, 1964). Por milhares de anos, as cores têm influenciado a vida do homem nas ciências e nas artes. A arte de colorir acompanha o homem desde a mais remota antigüidade. Estudos arqueológicos afirmam que desde 40.000 a 10.000 a.C. eram encontradas peças de vestuário e utensílios coloridos (WEITZ, 1994). Em 5.000 a.C., os corantes já eram utilizados para colorir cosméticos. Substâncias naturais como cúrcuma, páprica e açafrão eram utilizadas para coloração de alimentos desde 15.000 a. C. (BORZELLECA e HALLAGAN, 1992).

Existem vantagens e desvantagens entre duas classes de pigmentos. Os corantes artificiais são dotados das seguintes vantagens: possuem bom poder tintorial; apresentam uniformidade na coloração; há grande disponibilidade no mercado; e variedade de cores. Porém, os corantes naturais não apresentam como desvantagens as doenças que alguns corantes artificiais provocam, por exemplo: doenças da tireóide; lesões no fígado; hiperacidez; alergia tipo asma, rinite e urticária (GUIMARÃES, 1994).

As novas fontes de corantes naturais, bem como as já conhecidas, devem ser utilizadas sem agredir o meio-ambiente, sem provocar danos às matas tropicais, enfim, respeitando e vivendo em equilíbrio com o meio ambiente.

Dentre essas novas fontes, destacam-se com potencial para a produção de corantes e suas respectivas famílias: dendê (*Flaes guinensis*); cacau (*Theobrona cacao L.*); jenipapo (*Genipa americana*); açai (*Euterpe alata*); cará-roxo (*Discora alatá*); e pequi (*Cary caraceae*) (MASCARENHAS, 1997).

2.11.1. Os corantes utilizados

2.11.1.1. *Monascus*

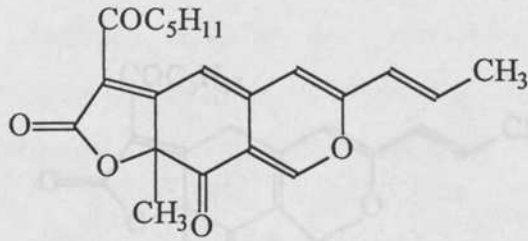
Países como o Japão e a China produzem corantes extraídos de fontes naturais. Um exemplo é o corante *Monascus* que possui uma gama de cores que vai do vermelho ao laranja.

Ele é produzido por fermentação do arroz, por meio de espécies de fungos, resultando no "red rice" ou "red kojic rice", seguido de um processo de purificação.

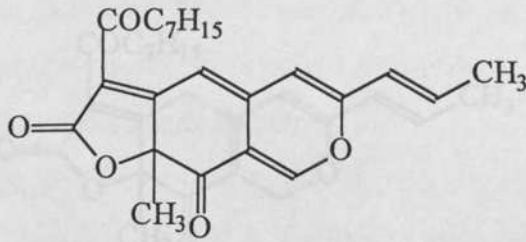
Ang-Khak (arroz vermelho ou arroz vermelho chinês), segundo PALO et al., 1960, é um produto da fermentação do arroz por *Monascus purpureus purpureus wentii*, identificando que essa estirpe de fungo apresentava bom crescimento na faixa de pH de 3,5 a 7,5; a temperatura ótima para produção da cor vermelha no arroz foi de 27°C por 24 h, com adição de água estéril à cultura em tempos pré-determinados, para manter sua umidade e o microorganismo em seu estado de crescimento. Esse fungo é tradicionalmente usado no sul da China, na Tailândia, no Japão, nas Filipinas e na Indonésia (WONG e KOEHLER, 1981).

As espécies mais utilizadas são *Monascus purpureus* e *Monascus anka*, que produzem os pigmentos: rubropunctatina (54), monascorubrina (55), rubropunctamina (56), monacorubramina (57), monascina (58) e ankaflavina (59), sendo estáveis na faixa de pH 2-10 (FRANCIS, 1987), conforme Figura 12.

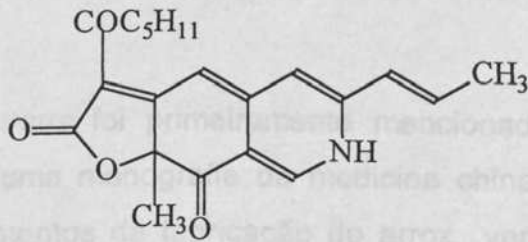
O corante *Monascus* é muito usado em carnes, peixes, bebidas, sorvetes e confeitaria, sendo o "red rice" bastante utilizado na Europa pela indústria de carnes (CH. HANSEN, 1996).



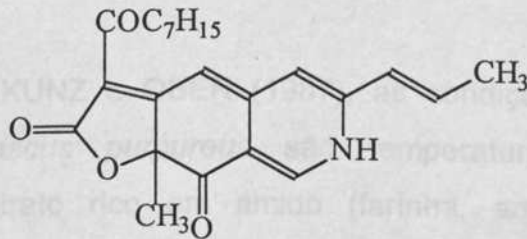
- 54- rubropunctatina



- 55- monascorubrina



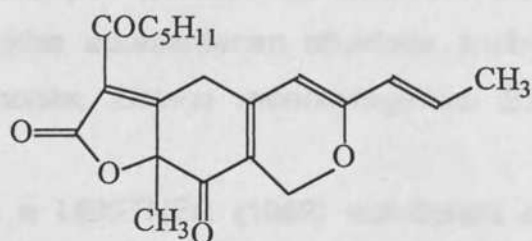
- 56- rubropunctamina



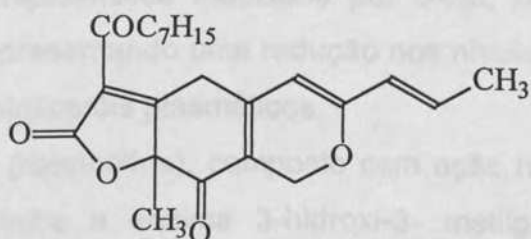
- 57- monascorubramina

Fonte: LIN (1973).

Figura 12 - Estruturas dos pigmentos produzidos por fungos do gênero *Monascus*.



58- monascina



59- ankaflavina

Figura 12, Cont.

Monascus purpureus foi primeiramente mencionado em "Pen Chaw Kang Um" - Chun Li (uma monografia da medicina chinesa), publicada em 1590, em que procedimentos da fabricação do arroz vermelho fermentado, usando esse fungo, foram descritos, em adição a atividades terapêuticas desse arroz. Doenças significativamente curadas pelo arroz vermelho fermentado incluíam indigestão, contusão muscular e disenteria (WONG e KOEHLER, 1981).

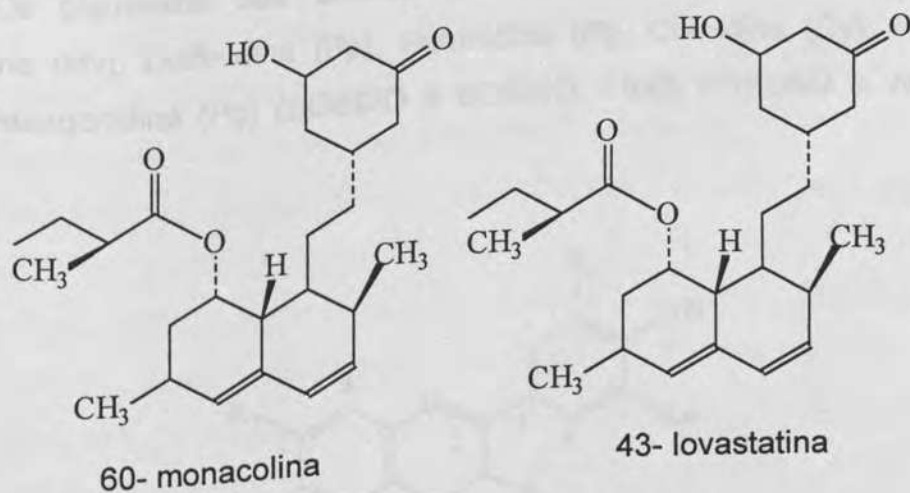
De acordo com KUNZ e OBER (1987), as condições ideais para o crescimento de *Monascus purpureus* são temperatura de incubação de 30°C, pH 8, substrato rico em amido (farinha, amido de arroz) e nitrogênio.

Os pigmentos de Ang-khak são utilizados nos países asiáticos, não só pela coloração, mas também pelo efeito antibacteriano e pela melhoria das propriedades organolépticas produzidas nos alimentos (FINK-GREMMELS e LEISTNER, 1989).

A atividade antibacteriana de *Monascus purpureus* foi relatada por WONG e BAU (1997). Estirpes isoladas de arroz vermelho fermentado e algumas mutantes induzidas apresentaram atividade antibiótica a *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Enterococcus Fecalis*.

FINK-GREMMELS e LEISTNER (1989) estudaram os pigmentos de *Monascus purpureus*, solúveis em metanol (extrato de Ang-khak), quanto ao efeito tóxico e anticolesterolêmico em ratos. Esses pesquisadores concluíram que, em animais hiperlipidêmicos induzidos por dieta, houve influência no metabolismo lipídico, apresentando uma redução nos níveis de colesterol total, colesterol-HDL e triacilgliceróis plasmáticos.

A monacolina K (mevinolina), composto com ação hipocolesterolêmica, que especificamente inibe a enzima 3-hidroxi-3- metilglutaril coenzima A redutase foi isolada a partir dos fungos *Monascus ruber* e *Aspergillus terreus*. No entanto, referências sobre a produção desse composto por *Monascus purpureus* não foi relatada. A estrutura desse composto mostra sua semelhança com a lovastatina, um dos potentes medicamentos utilizados hoje no controle do colesterol (GOODMANS et al., 1996).



Diversos compostos, isolados por ENDO (1975 e 1980); ENDO e HASUMI (1985); ENDO et al., (1986 a, b), evidenciam substâncias denominadas monacolinhas produzidas por *Monascus sp*, as quais demonstraram forte ação inibidora da síntese de colesterol *in vivo*.

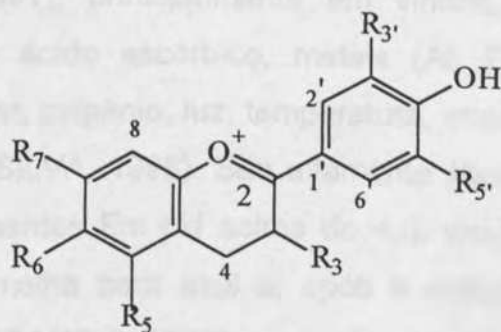
2.11.1.2. Antocianina

As antocianinas são pigmentos naturais responsáveis pela coloração azul, vermelha, púrpura e violeta de muitas espécies do reino vegetal, principalmente em flores, frutas e folhas (BOBBIO e BOBBIO, 1992; STRINGHETA, 1992; JACKMAN, 1987).

Como outros compostos fenólicos, as antocianinas estão localizadas nos vacúolos das células. Esses pigmentos são solúveis em água e, apesar de se acumularem essencialmente nas células epidérmicas de flores e frutos, são freqüentemente encontrados também em outras partes da planta, como raízes e folhas (BROUILLARD, 1983).

Na natureza, as antocianinas (Quadro 5) sempre ocorrem na forma heteroglicosídica, contendo uma ou mais moléculas de açúcar (glicose, galactose, ramnose, arabinose), ou podem estar aciladas com ácidos fenólicos com p-cumárico, caféico, ferúlico, sinápticos e ácidos alifáticos, como o malônico, acético, p-hidroxibenzoico, succínico e málico da aglicona antocianidina, sendo, geralmente, insolúveis em óleos e gorduras (ARAÚJO, 1995).

Os pigmentos das antocianinas mais comuns são derivados da Malvidina (Mv), Delfinidina (Pp), Petunidina (Pt), Cianidina (Cy), Peonidina (Pn), Pelargonidina (Pg) (BOBBIO e BOBBIO, 1992; FREUND e WASHAM, 1988).



Cátion flavilium

Quadro 5 - Estruturas de antocianinas mais comuns

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).

As antocianinas formam as cores de muitos frutos e vegetais, sendo provavelmente o corante mais comum, de cor vermelha, em sucos de frutas, vinhos e geléias, sendo identificadas em matérias vegetais tão diversas quanto uvas, amora preta (STRINGHETA, 1992), maçãs, morangos, framboesas, cerejas, cascas de batata doce, cebola roxa (TIMBERLAKE e BRIDLE, 1980; FREUND e WASHAM, 1988), e, como novas fontes, *Tradescantia pallida* (TPA), beterraba (*Barcelha rubra L.*), capim gordura (*Mellinis minutiflora*) (STRINGHETA, 1991) e Maria pretinha (*Solanum americanum*) (SILVA, 1996).

Apesar de esses corantes serem utilizados com enorme sucesso nas bebidas (LAURO, 1991), principalmente em vinhos, são pouco estáveis quando reagem com ácido ascórbico, metais (Al, Fe e Sn) (BOBBIO e BOBBIO, 1992), açúcar, oxigênio, luz, temperatura, enzimas (polifenol oxidase (PPO) e peroxidase (SILVA, 1996). São altamente sensíveis às variações do meio onde estão presentes. Em pH acima de 4,0, descolorem-se facilmente, passando da cor vermelha para azul e, após a estocagem e aquecimento, tornam-se amarelas (FRANCIS, 1992).

Testes realizados com corantes naturais, em coelhos que receberam antocianinas glicosiladas 6,0 g/kg (via oral) ou 500 mg/kg via intraperitoneal, não se verificaram efeitos adversos sobre a pressão sangüínea. Já na dose de

25 mg/kg de peso corporal, foram observados efeitos diuréticos e também vasodilatação em artérias sangüíneas (POURRAT et al., 1967).

VALENTE (1998) testou duas doses de antocianinas (40 e 80 mg) em ratos com hiperlipidemia induzida por triton, verificando efeito hipolipidêmico quando dosados os níveis de lipídeos no soro sangüíneo de ratos machos Wistar.

Em experimentos realizados com camundongos, ratos e coelhos, utilizando antocianinas extraídas de extrato de groselha, mirtilo e baga de sabugueiro, em doses de 1,5; 3; e 9 g/kg fornecidos a três gerações, observou-se que os animais não apresentaram efeito teratogênico (FRINHANI, 1998).

TIMBERLAKE e HENRY (1988) mostraram os efeitos de antocianinas de uvas (*Vitis Labrusca*) testadas em cães e ratos que foram avaliados durante 90 dias, não se observando nenhum efeito sobre a reprodução desses animais. A dose testada foi de 5,0 mg/kg de peso/dia. Esses mesmos autores relatam o uso de antocianinas em formulações farmacêuticas para o tratamento de desordens na circulação sangüínea.

Outro efeito citado por eles mostra que em um ensaio clínico utilizando doses de 500/600 mg/dia de antocianinas de *Viccinium myrtillus* (VMA), por 8 a 33 meses, verificou-se normalização do colágeno polimérico e redução de 30% na glicoproteína estrutural que causa estreitamento dos capilares sangüíneos em indivíduos diabéticos. BONIFACE et al. (1986) também observaram esse efeito

MORAZZONI e MAGISTRETTI (1986) relataram diversos estudos utilizando tipos diferentes de antocianinas na prevenção de trombozes em animais experimentais.