

# FLAVONÓIDES

Fotos/ilustrações cedidas pelos autores

Farmacologia de flavonóides no controle hiperlipidêmico em animais experimentais

## INTRODUÇÃO

Desordens coronarianas são uns dos problemas causados pelo acúmulo de colesterol, e têm sido causa de alta taxa de mortalidade no Brasil, Japão, Inglaterra, Estados Unidos e outros países (Truswell, 1984).

A aterosclerose e, em particular, a cardiopatia coronária, relaciona vários fatores de risco, tais como: idade, sexo, obesidade, estresse emocional, baixos níveis de colesterol -HDL, fumo, dietas ricas em gordura saturada e ainda problemas genéticos. A importância de todos esses fatores de risco é correlacionada com o aumento dos níveis de colesterol no sangue, assim como as atividades pró-oxidantes de radicais livres sobre as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) no nível endotélio. O consumo de gorduras saturadas aumentam os valores do colesterol na corrente sanguínea, impedindo a atividade dos receptores de LDL e, conseqüentemente, dificultando a sua eliminação (Leite, 1994).

Níveis elevados de colesterol-HDL estão associados com a diminuição de risco da cardiopatia coronariana; seu efeito é oposto ao colesterol-LDL, uma vez que este transporta o colesterol para os tecidos, enquanto o HDL atua no transporte do colesterol em excesso para o fígado. O quociente colesterol LDL/colesterol-HDL é um indicativo confiável de risco aterogênico. Nas populações onde são altas as concentrações tanto do LDL como do HDL, os indivíduos com menores níveis de HDL estão mais susceptíveis a padecer de cardiopatia coronariana. Ainda que os níveis de HDL possam estar condicionados geneticamente, a alimentação é um fator determinante (Feinleb, 1984).

As partículas de HDL facilitam o transporte de colesterol dos tecidos periféricos ao fígado, para sua excreção. Os ácidos saturados não reduzem os níveis de colesterol-HDL, mas aumentam a concentração de colesterol-LDL. A maioria das investigações epidemiológicas mostram uma correlação positiva entre as concentrações séricas de triacilgliceróis e a cardiopatia coronariana (Feinleb, 1984).

A redução nas concentrações plasmáticas de lipoproteínas LDL, VLDL podem diminuir o risco do infarto do miocárdio (Lipid Research, 1984).

O esquema 1 apresenta a formação de uma placa aterosclerótica. Partículas de LDL e plaquetas penetram no endotélio e causam lesões (1). Fatores de crescimento liberados pelas plaquetas estimulam as células musculares abaixo do endotélio, causando proliferação no sítio da lesão. Todo processo é acompanhado pela migração de monócitos e outras partículas de LDL (2), conseqüentemente, ocorre a formação de células espumosas (3). Desenvolve-se, então uma aglomeração na região de fosfolipídios, colesterol e cálcio e, gradualmente, ocorre o endurecimento deste, formando saliências fibrosas e resistentes que são as placas de ateroma.

Como prevenção da doença arterial coronariana, é comum o uso de fármacos hipolipemiantes como adjuvantes da dietoterapia para pacientes com dislipoproteinemia. A busca de novos fármacos que possam atuar em uma redução dos níveis de colesterol tem sido motivo de novas pesquisas.

### **Renato Matos Lopes**

Mestrando do curso de Agroquímica  
Departamento de Bioquímica e Biologia  
Molecular  
Universidade Federal de Viçosa  
renato@tdnet.com.br

### **Tânia Toledo de Oliveira**

Doutora, Professora Adjunta do  
Departamento de Bioquímica e Biologia  
Molecular da Universidade Federal de  
Viçosa  
ttoledo@mail.ufv.br

### **Tanus Jorge Nagem**

PbD, Professor Adjunto do Departamento  
de Química da Universidade Federal de  
Ouro Preto  
tjnagem.bb@zaz.com.br

### **Aloísio da Silva Pinto**

Mestre, Professor Assistente do Departa-  
mento de Veterinária da Universidade  
Federal de Viçosa  
aloisio@mail.ufv.br

## FLAVONÓIDES

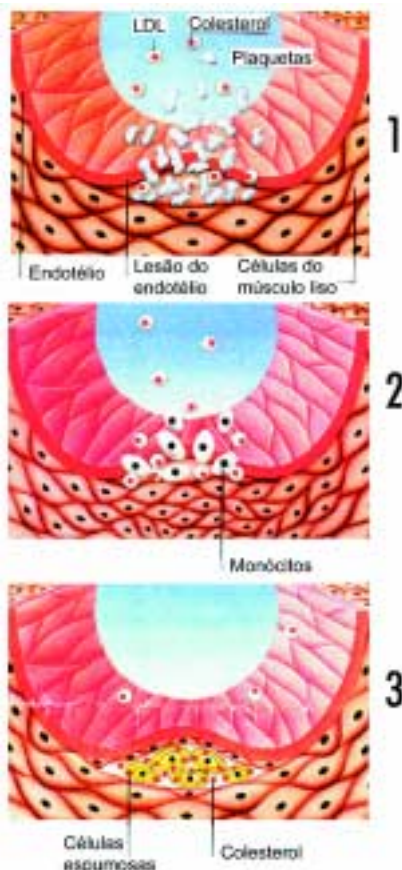
Os flavonóides compõem uma ampla classe de substâncias de origem natural, cuja síntese não ocorre na espécie humana. Entretanto, tais compostos possuem uma série de propriedades farmacológicas que os fazem atuar sobre sistemas biológicos. Conseqüentemente, muitas dessas propriedades atuam de forma benéfica para a saúde humana. Atualmente, já foram identificadas mais de quatro mil substâncias pertencentes ao grupo dos flavonóides (Peterson & Dwyer, 1998)

Estruturalmente, os flavonóides constituem substâncias aromáticas com 15 átomos de carbono ( $C_{15}$ ) no seu esqueleto básico, sendo compostos fenólicos, que possuem nessa estrutura anéis aromáticos  $C_6-C_3-C_6$ . O esqueleto  $C_{15}$  dos flavonóides é biogeneticamente derivado do fenilpropano ( $C_6-C_3$ ) e três unidades de acetato ( $C_2$ ). Portanto, flavonóides são derivados de benzo-gama-pirona de origem vegetal (Yokozawa et al, 1997), podendo haver facilmente interconversão entre eles (vide figura 1).

A explicação para a existência de uma grande diversidade estrutural dos flavonóides é explicada pelas modificações que tais compostos podem sofrer, tais como: hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, entre outras (Koes et al, 1994).

Consumidos em grandes proporções dentro de uma dieta humana regular, os flavonóides são encontrados em vegetais, legumes, frutas, chás de ervas, mel, entre outros produtos de consumo cotidiano.

Apesar do termo "flavonóide" derivar do latim *flavus*, que significa amarelo, observa-se que os grupos flavonóis e flavonas são incolores e que a classe das antocianinas possuem substâncias que variam no seu espectro de coloração do verde ao azul. A tabela 1 apresenta algumas das principais classes de flavonóides, assim como alguns dos seus principais representantes e características.



**Esquema 1:** Formação da placa aterosclerótica

### Propriedades farmacológicas dos flavonóides

Diversos ensaios "in vivo" e "in vitro" vêm comprovando e determinando a ampla variedade das atividades biológicas dos compostos flavonóides. Segundo Ratty & Das (1998), algumas dessas propriedades farmacológicas já foram observadas por Szent-Gyorgi em 1936. Destacam-se, dentre outros, os seguintes efeitos dos flavonóides sobre os sistemas biológicos: capacidade antioxidativa (esta constitui a atividade mais elucidada pelos estudos até agora desenvolvidos); atividades antiinflamatória e de efeito vasodilatador; ação anti- alérgica; atividade contra o desenvolvimento de tumores, anti - hepatotóxica, antiulcerogênica; atuação antiplaquetária, bem como ações antimicrobianas e antivirais. Pesquisas recentes demonstraram que alguns flavonóides atuam na inibição da replicação viral do agente causador da Síndrome da Imunodeficiência Hu-

mana - HIV (Lin et al. 1997).

Sabe-se que os flavonóides podem inibir vários estágios dos processos que estão diretamente relacionados com o início da aterosclerose, como ativação de leucócitos, adesão, agregação e secreção de plaquetas (Hladovec, 1986b), além de atividades hipolipidêmicas (Lin et al, 1986) e aumento de atividades de receptores de LDL (Kirk et al, 1998).

Segundo Anton & Beretz (1990), as propriedades farmacológicas dos flavonóides ainda não haviam sido totalmente avaliadas. Após uma década de avanços nessa linha de pesquisa, pode-se afirmar que novos estudos toxicológicos e farmacológicos devem ser realizados, uma vez que a ampla diversidade estrutural desses compostos - bem como a capacidade de interação com outras substâncias - nos reporta a imaginar que novas descobertas ainda podem e devem ser realizadas.

Com o objetivo de se avaliar a ação hipolipidêmica de flavonóides e de corantes naturais em animais experimentais com hiperlipidemia induzida, o laboratório de Biofármacos da Universidade Federal de Viçosa vem desenvolvendo uma série de estudos para conhecer o potencial farmacológico desses compostos.

A seguir, são descritas algumas metodologias empregadas pelo laboratório de Biofármacos da Universidade Federal de Viçosa, utilizando-se coelhos com hiperlipidemia induzida a partir de uma dieta rica em ácido cólico e colesterol ou aplicação de Triton:

### METODOLOGIA GERAL.

Considerando-se um número determinado de coelhos machos, albinos, adultos, da Raça Nova Zelândia (com peso médio de  $2500 \pm 200$ g), dispostos em gaiolas individuais com temperatura local que varia entre  $22 \pm 3^{\circ}C$ , e taxa de umidade relativa do ar situada na faixa de 70%. Esses animais são submetidos a uma dieta com ração comercial SOCIL, na proporção de 130 g ao dia e água potável *ad libitum* ( figura 2).

Após o período de adaptação às condições locais, os animais são or-

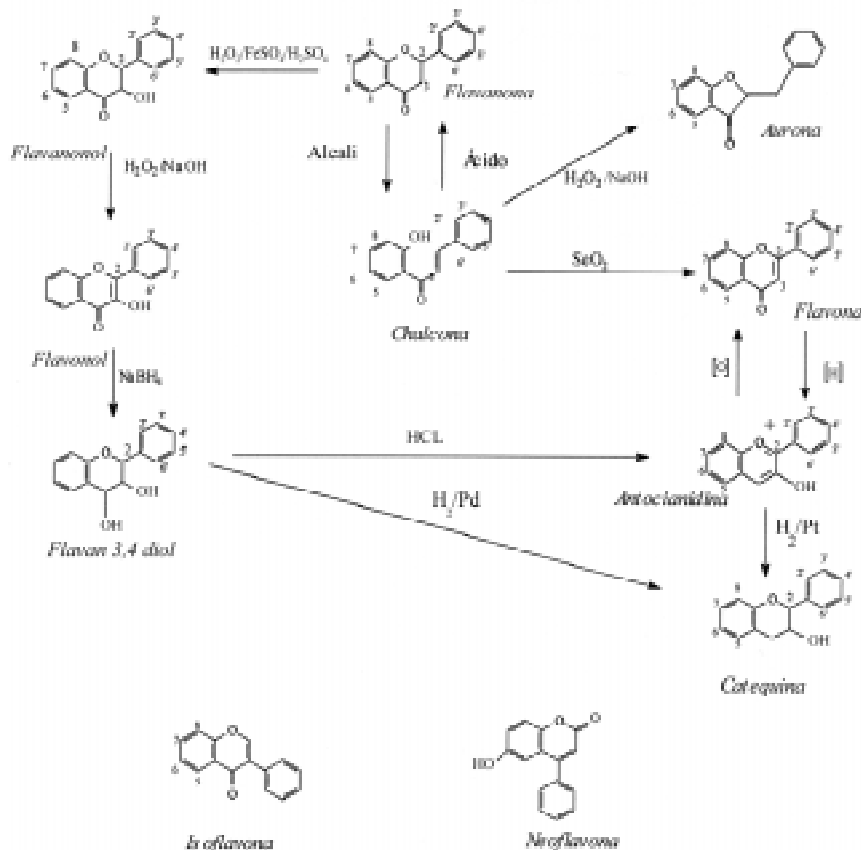
denados em grupos, de acordo com o tratamento a ser aplicado: a) Grupo controle; b) Controle + substâncias indutoras de hipercolesterolemia; c) Controle + substâncias indutoras de hipercolesterolemia + substâncias – teste (flavonóides ou medicamentos). Os tratamentos são efetuados durante períodos predeterminados de tempo e, normalmente o tratamento dos animais é realizado por via oral através de cápsulas (figura 3). Amostras de sangue são retiradas antes, durante e após o tratamento desses animais para verificação e acompanhamento dos efeitos dos tratamentos sobre os constituintes lipídicos, o sangue retirado é centrifugado a 7100 G por 15', para obtenção do soro. As dosagens sorológicas são realizadas e os resultados do colesterol, do colesterol-HDL e dos triacilgliceróis são obtidos por meio de Kits Biolab no equipamento multiparamétrico Alizê (figura 4).

As substâncias utilizadas como indutores das hiperlipidemias são: colesterol a 1% e ácido cólico 0,1% misturados à ração, assim como a aplicação intraperitonial de Triton WR 1339 na dose de 300mg/kg de peso corporal do animal, utilizando como veículo NaCl 0,9%.

Triton é também conhecido como tyloxapol, um detergente não aniônico de estrutura polimérica da Sigma, cuja utilização vem sendo amplamente empregada para promover hiperlipidemia em cobaias (Mathur et al., 1964; Sharma, 1979; Choi et al., 1991).

## RESULTADOS OBTIDOS

Nossos trabalhos demonstram que naringenina e chitosan têm efeitos sobre lipídios no soro de coelhos com hiperlipidemia induzida por Triton. Certificou-se, inclusive, que a associação entre naringenina e chitosan foram mais eficazes no controle do metabolismo lipídico. Os resultados obtidos demonstram que, em um efeito sinérgico das duas substâncias-teste, promovem uma redução de 71,42% de triacilgliceróis, em comparação com o grupo de animais que apresentaram hiperlipidemia induzida pelo Triton ( Lopes, 2000).



**Figura 1:** Interconversão dos principais grupos de flavonóides. Adaptado de Domingues (1973)

O flavonóide Naringina associado à antocianina e ao carmin (corantes naturais utilizados na indústria de alimentos) reduziram em até 70,21% os triacilgliceróis e em 63,01% os níveis de colesterol em ratos hiperli-

et al., 1999). Dessa forma, a associações entre naringina/antocianina e naringina/carmim demonstraram alta eficiência na redução dos níveis de colesterol e triacilglicerol.

Os flavonóides quercetina, morina e o medicamento ácido nicotínico, empregados de forma isolada e associada, apresentaram ação no metabolismo lipídico em ratos machos hiperlipidêmicos (Santos et al. 1999a). Os resultados mostraram uma redução de 83,77% de triacilgliceróis e 76,89% de colesterol, quando se empregou um tratamento conjunto de morina e ácido nicotínico. Quercetina e ácido nicotínico promoveram uma variação positiva em 21,96% para o colesterol-HDL.

O ácido nicotínico é um medicamento empregado de forma usual no controle de níveis de lipídios no organismo. Ações hipolipidêmicas desse medicamento decorrem da inibição da lipólise do tecido adiposo, mobilização dos ácidos graxos, redução da esterificação dos triacilgliceróis no fígado e aumento da lipase



**FIGURA 2:** Coelho da Raça Nova Zelândia confinado em gaiola individual durante o tratamento com a substância-teste

pidêmicos, através de Triton. Naringina e antocianinas foram também as responsáveis pelo acréscimo de 15,27% de colesterol – HDL, quando comparado aos animais tratados apenas com a ração e o indutor ( Nagem

**Tabela 1:** Principais classes de flavonóides e descrição de suas características básicas

CLASSES	COLORAÇÃO	EXEMPLOS	COMENTÁRIOS
Antocianinas	Azul, vermelha e violeta	Cianidina; Delfinidina; Peonidina.	Antocianinas estão predominantemente em frutas e flores e provavelmente foram os primeiros flavonóides a serem isolados – provenientes de pigmentos florais, conforme indicam seus próprios nomes. São usadas como corantes.
Flavanas (mono, bi e triflavans)	Incolor	Catequina; Epicatequina Luteoforol; Procianidina. Theaflavina	Flavanas são encontradas em frutas e chás (verdes ou pretos). Biflavanas são encontradas em frutas, lúpulo, nozes e bebidas como chás e água de coco. O sabor peculiar de algumas bebidas, frutas, chás e vinhos é devido, principalmente, à presença das biflavanas.
Flavanonas	Incolor para um amarelo pálido.	Hesperidina; Naringenina.	Flavanonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas.
Flavonas	Amarelo pálido	Apigenina; Luteolina; Diosmetina; Tangeretina; Nobiletina	Flavonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas. Mas também em cereais, frutas, ervas e vegetais. Conferem o pigmento amarelo em flores. Os compostos mais comuns são a apigenina e a luteolina.
Flavonóis	Amarelo pálido	Quercetina; Rutina; Mircetina; Kaempherol	Os flavonóis estão presentes em diversas fontes, sendo predominantes em vegetais e frutas. A quercetina é o principal representante da classe.
Isoflavonóides	Incolor	Daidzeína; Genisteína.	Isoflavonóides são encontrados quase que exclusivamente em legumes, particularmente na soja.

Fonte: Adaptado de Peterson & Dwyer, 1998



**FIGURA 3:** Recipiente lacrado e identificado contendo as cápsulas com a substância-teste a ser utilizada durante o ensaio biológico

lipoprotéica ( Goodman & Gilman's, 1996).

Diversos compostos flavonoídicos de diferentes plantas, que foram extraídos, isolados, identificados e quantificados, foram transformados quimicamente e empregados em ensaios biológicos para avaliações dos seus potenciais farmacológicos sobre lipídios em ratos (Santos et al, 1999b;

Nagem et al, 1995; Santos et al, 1999c).

### CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstram reduções estatisticamente significativas para os níveis de colesterol e de triacilgliceróis, assim como aumento dos valores de colesterol-HDL, destacando-se, inclusive, efeitos sinérgicos dos compostos flavonoídicos testados. Dessa forma, é fundamental o desenvolvimento de novas pesquisas sobre o potencial dos flavonóides no tratamento e na prevenção das hiperlipidemias, uma vez que a obtenção de novos resultados servirão de instrumentos para a utilização desses produtos na prevenção de doenças cardiovasculares.

As interações com outros núcleos de pesquisas para o desenvolvimento de novas metodologias de análises permitirão aprofundar os conhecimentos sobre os



**FIGURA 4:** Equipamento Alizê (Analisador Automático de Bioquímica), capaz de realizar análises de concentrações de constituintes sanguíneos, aproximadamente 180 testes/hora

mecanismos de ações desses compostos naturais, assim como obter novas avaliações de suas propriedades farmacológicas.

Evidencia-se também a importância e a aplicabilidade de avaliações de toxicidade de flavonóides sobre sistemas biológicos. Essa afirmação reside no fato de que ensaios toxicológicos permitirão o emprego de doses

seguras dos flavonóides como fármacos.

O laboratório de biofármacos da Universidade Federal de Viçosa possui interesse em interagir com outros núcleos de pesquisa, que, porventura, tenha como objetivo estudos farmacológicos e toxicológicos de flavonóides, corantes naturais ou outros produtos de origem natural.

## REFERÊNCIAS

Anton, R.; Beretz, A. (1990). Flavonoids: antithrombotic agents or nutrientes? Bull. Acad. Natle. Méd. , 174:6 - 709-14.

Choi, J.S.; Yokosawa, T.; Oura, H. (1991). Antihyperlipidemic effect of flavonoids from prunus davidiana. Jour. Nat. Prod. 54(1):218-224.

Domingues, X.A. Métodos de Investigación Fitoquímica. 1<sup>a</sup> Ed. Editorial Limusa. México (1973).

Feinleb, M. (1984). The magnitude and nature of the decrease in coronary artery disease mortality rate. American Journal of Cardiology. Vol.54:2c-6c.

Goodmans, J.G.; Gilman, A.G.; Limbird, L.E. The pharmacological basis of therapeutics 9<sup>a</sup> Ed. The McGraw-Hill Company, pp. 1843, 1996.

Hladovec, J (1986b). The effect of antithrombotics in a new model of arterial thrombosis. Thromb. Res., 41:665-670.

Kirk, E.A.; Sutherland, P.; Wang, S.A.; Shait, A. & Leboeuf, R.C. (1998). Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL-receptor-deficient Mice. J. Nutr. 128:954-954.

Koes, R. E.; Quattrocchio, F.; Mol, J. N. M. (1994). The

flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. Bioessays, vol.16 (12):123-132.

Leite, P.F. (1994). Risco cardiovascular: Fatores metabólicos e nutricionais, diagnóstico e tratamento. Editora Acta Médica Ltda. 175p.

Lin, B.B.; Chen, H.L & Huang, P.C. (1986). Effects on instant Pauchong Tea, Cathecin, and Caffeine os serum cholesterol and serum low-density-lipoprotein in mice. Nutr. Rep. Int. 34:821-829.

Lin, M.; Anderson, H.; Flavin, M.T.; Pai, Y.S. (1997). In vitro anti-HIV activity of bioflavonoids isolated from rhus succedanea and garcinia multiflora. Journal Natural Products, vol. 60 884-8.

Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial Results. (1984). Reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. Ibid. 251:365-374.

Lopes, R.M.; Oliveira, T.T.; Nagem, T.J.; Pinto, A.S; Camini, N.A. & Leão, M.A. (2000). Efeitos do chitosan e naringenina sobre lipídeos no soro de coelhos com hiperlipidemia induzida por Triton. RBAC, vol.32(2): 69-71.

Mathur, K.S.; Singhal, S.S.; Sharma, R.D. (1964). Effect of bengal gram on experimentally induced high levels of cholesterol in tissues and serum in albino rats. Journal Nutrition 84:201-204.

Nagem, T.J.; Oliveira, T.T.; Silva, M. C.; Miranda, L.C.G. (1995). Efeito de derivados flavonoídicos sobre lipídeos em ratos. Arq. Biol. Tecnol. 38(3):859-868.

Nagem, T.J.; Pereira, W.L.; Oliveira, T.T.; Pinto, A.S.; Oliveira, M. G. & Stringheta, P. C. (1999). Efeitos de naringina e dos corantes

naturais antocianina e carmin no metabolismo lipídico. Rev. Bras. Farm., 80(1/2):25-28.

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

Ratty, A., K. and Das, P. N. (1998) Effects of Flavonoids on Nonenzymatic Lipid Peroxidation: Structure-Activity Relationship. Biochemical Medicine and Metabolic Biology 39, 69-79.

Santos, K.F.R.; Oliveira, T.T.; Nagem, T.J.; Pinto, A.S; Oliveira, M.A. & Soares, J.F (1999a). Efeitos das associações de morina-ácido nicotínico e quercetina ácido nicotínico no controle de lipídeos. RBCA, 31(1):5-7.

Santos, K.F.R.; Oliveira, T.T.; Nagem, T.J.; Pinto, A.S; Oliveira, M.G.A. (1999b). Hypolipidemic effects of naringenin, rutin, nicotinic acid and their associations. Pharmacological Research, Vol 40(6): 493-496.

Santos, K.F.R.; Oliveira, T.T.; Nagem, T.J.; Pinto, A.S; Stringheta, P.C. (1999c). Associations of flavonoids and natural dyes in the control of lipidic metabolism. Acta Farma. Bonaerense 18(2): 127-30.

Sharma, R.D. (1979). Effects of various isoflavones on lipid levels in triton treated rats. Atherosclerosis, 33:371-375.

Truswell, A.S. (1984). End of static decade for coronary disease. British Medical Journal. 289(64): 509-510.

Yokozawa, T.; Dong, E.; Liu, Z.W. & Shimizu, M. (1997). Antioxidant activity of flavones and flavonols in vitro. Phytotherapy Research. Vol.11:446-450. 