

Diana Filipa Afonso Lopes Peres Flambó

**Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade
Antimicrobiana**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2013

Diana Filipa Afonso Lopes Peres Flambó

**Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade
Antimicrobiana**

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2013

Diana Filipa Afonso Lopes Peres Flambó

**Atividades Biológicas dos Flavonoides: Atividade
Antimicrobiana**

Atesto a originalidade do trabalho,

Ass.: _____

(Diana Filipa Afonso Lopes Peres Flambó)

“Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Professora Doutora Fátima Cerqueira”.

Resumo

Os flavonoides pertencem a um grupo importante de substâncias naturais constituído por estruturas polifenólicas e que geralmente estão presentes em folhas, flores, raízes e frutos das plantas. As suas principais classes são os flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanas, isoflavonoides e antocianinas.

Este trabalho tem por objetivo fazer uma revisão acerca de algumas atividades biológicas dos flavonoides dando um particular interesse à atividade antimicrobiana e imunomoduladora destes compostos.

Embora a presença de substâncias antimicrobianas nas plantas não seja uma realidade recente, o surgimento de microrganismos resistentes tem incentivado a comunidade científica na pesquisa de novos agentes antimicrobianos.

Por outro lado, os flavonoides são capazes de modular a atividade de enzimas e afetar o comportamento de muitos sistemas celulares, exercendo efeitos benéficos sobre o organismo.

Através desta pesquisa verifica-se que a comunidade científica tem movido grandes esforços para relatar os potenciais benefícios e atividades dos flavonoides, apesar de ainda ser necessária muito mais informação nesta área.

Abstract

Flavonoids belong to a large group of substances consisting of natural polyphenolic structures and generally are present in leaves, flowers, roots and fruits of plants. Main classes are flavonols, flavones, flavanones, flavans, isoflavones and anthocyanins.

This paper aims to do a review on some biological activities of flavonoids giving special interest to the antimicrobial and immunomodulatory activity of these compounds.

Although the presence of antimicrobial substances in plants is not a recent reality, the emergence of resistant microorganisms has encouraged the scientific community in the search for new antimicrobial agents.

Furthermore, the flavonoids are capable of modulating the activity of enzymes and affect the behavior of many cellular systems, exerting beneficial effects on the organism.

Through this research it appears that the scientific community has moved great efforts to report the potential benefits and activities of flavonoids, although still required much more information in this area.

Agradecimentos

À Professora Doutora Fátima Cerqueira, no papel de orientadora da presente dissertação, manifesto a minha mais sincera gratidão pela disponibilidade, interesse, dedicação e simpatia que sempre evidenciou em todas as minhas dúvidas.

Aos meus pais a quem devo todo o meu percurso académico, todo o carinho e esforço para realização deste sonho.

Ao meu irmão, agradeço a amizade e compreensão.

Ao Ricardo, agradeço o carinho infindável, a disponibilidade e a compreensão manifestadas em todos os momentos.

A todos os meus amigos pela compreensão, pela força e paciência que tiveram nesta etapa final.

Índice Geral

Resumo	i
Abstract	ii
Agradecimentos	iii
Índice de figuras	vi
Índice de tabelas	vii
Lista de abreviaturas	viii
I. Introdução	1
II. Flavonoides	2
1. Origem, ocorrência na natureza, função nas plantas	2
2. Definição e estrutura química	3
3. Atividade antimicrobiana	9
i. Atividade antifúngica	9
ii. Atividade antivírica	11
iii. Atividade antibacteriana	12
iv. Atividade antiparasitária	15
4. Atividade imunomoduladora e anti-inflamatória	16
5. Outras atividades biológicas	18
i. Atividade antioxidante	18
ii. Inibição enzimática	19

iii.	Atividade vascular e cardioprotectora	20
	iii.1. Efeitos anti ateroscleróticos	20
	iii.2. Efeitos anti trombogénicos	20
	iii.3. Efeitos cardioprotectores	21
iv.	Atividade citotóxica e anti tumoral	21
III.	Conclusão	24
IV.	Bibliografia	26

Índice de figuras

Figura 1. Estrutura química da Rutina (vitamina P).	2
Figura 2. Biossíntese dos flavonoides.	3
Figura 3. Estrutura base dos flavonoides mais comuns (presentes em alimentos), com anéis e posições numeradas.	4
Figura 4. Estrutura química dos flavonóis.	4
Figura 5. Estrutura química das flavonas.	5
Figura 6. Estrutura química das flavanonas.	5
Figura 7. Estrutura química das flavanas.	6
Figura 8. Estrutura química dos Isoflavonoides.	6
Figura 9. Estrutura química das antocianinas.	7
Figura 10. Estrutura química das flavonas luteolina (R = H), quercetina (R= OH), 3 – metilquercetina (R = OCH ₃).	12

Índice de tabelas

Tabela 1. Principais subclasses e características dos flavonoides.	8
---	----------

Lista de abreviaturas

ADN. Ácido Desoxirribonucleico

ARN. Ácido Ribonucleico

bFGF. Fator de crescimento básico dos fibroblastos (*Basic fibroblast growth factor*)

CMI 50. Concentração mínima inibidora

COX. Ciclooxigenase

EGF. Fator de crescimento epidérmico (*Epidermal growth factor*)

IBD. Doença inflamatória intestinal (*Inflammatory bowel disease*)

IFN. Interferão (*Interferon*)

LDL. Lipoproteínas de baixa densidade (*Low – density lipoprotein*)

MRSA. *Staphylococcus Aureus* resistentes à meticilina (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*)

NK. *Natural Killer*

NO. Óxido nítrico (*Nitric oxide*)

OMS. Organização Mundial da Saúde

PGS. Prostaglandinas (*Prostaglandin*)

PHA. Fitohemaglutinina (*Phytohemagglutinin*)

TGF - α . Fator de crescimento transformador alfa (*Transforming growth factor alfa*)

TH. Tripanossomíase humana

TNF. Fator de necrose tumoral (*Tumor necrosis factor*)

t – PA – Ativador tecidual do plasminogénio (*Tissue plasminogen activator*)

I – Introdução

A natureza constituiu desde sempre, uma das maiores fontes de medicamentos para as populações. As infusões de plantas para o tratamento de diversas doenças desde os tempos da pré – história, são um exemplo desta realidade (Shaohaib *et al.*, 2011).

O potencial terapêutico exercido através de plantas, animais, minerais e alguns microrganismos têm vindo a ser investigados principalmente em países com grandes recursos industriais (Cowan, 1999; Rios & Recio, 2005).

Calcula-se que existam entre 400.000 a 500.000 espécies de plantas por toda a superfície terrestre. Apesar desta diversidade de espécies, apenas uma pequena parte é estudada com fins fitoterapêuticos, principalmente no que diz respeito à atividade antimicrobiana (Bylka *et al.*, 2004; Shaohaib *et al.*, 2011).

O uso irracional de antimicrobianos tem constituído nas últimas décadas, uma das maiores causas de surgimento de microrganismos multirresistentes. Este facto tem incentivado a comunidade científica na pesquisa de novos agentes antimicrobianos. Embora a presença de substâncias antimicrobianas nas plantas não seja uma realidade recente, apenas desde a descoberta da penicilina, em 1928 é que esta procura obteve um grande impulso (Cowan, 1999; Kim & Park, 1998; Rios & Recio, 2005).

As plantas apresentam diversas vias metabólicas originando diversos tipos de compostos. Entre eles encontram-se os alcaloides, flavonoides, quinonas, taninos ou terpenos (Cowan, 1999; Harborne & Williams, 2000; Pietta & Mauri, 2001).

Dentre os fitoterápicos atualmente estudados, os flavonoides têm merecido destaque em virtude da sua ampla gama de ações biológicas e terapêuticas demonstradas tanto em condições experimentais como em seres humanos (Beecher, 2003; Cushnie & Lamb, 2011; Harborne & Williams, 2000; Lakhanpal & Rai, 2007; Nijveldt *et al.*, 2011; Peterson *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2007).

Por essa razão, o presente trabalho tem por objetivo fazer uma revisão das atividades biológicas dos flavonoides, com especial ênfase para a sua atividade antimicrobiana.

II – Flavonoides

1 - Origem, ocorrência na natureza e função nas plantas

Em 1930, o cientista húngaro Albert Szent - Gyorgyi isolou uma nova substância química proveniente de laranjas. Inicialmente classificou-a de vitamina P, embora mais tarde tenha verificado que de fato se tratava de um flavonoide, a Rutina (Fig.1). Esta descoberta garantiu – lhe um prêmio Nobel (Ghiasi *et al.*, 2010; Lakhanpal & Rai, 2007; Nijveldt *et al.*, 2001).

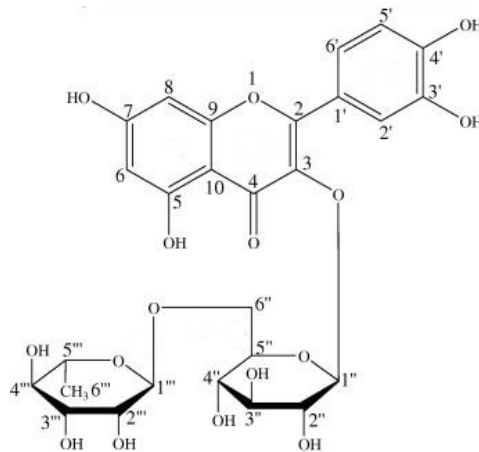


Figura 1. Estrutura química da Rutina (vitamina P).

Fonte: Adaptado de Ghiasi *et al.*, 2010.

Os flavonoides representam um dos grupos mais importantes e diversificados de origem vegetal que se encontram geralmente em folhas, flores, raízes e frutos das plantas (Cowan, 1999). O mesmo composto pode ainda apresentar diferentes concentrações dependendo do órgão vegetal em que se encontra. Estas concentrações podem ser influenciadas por diversos fatores naturais como radiação solar, raios UV, estações do ano e ainda outros fatores como poluentes que podem alterar o metabolismo da planta (Harborne & Williams, 2000; Nijveldt *et al.*, 2001).

Nas Plantas, os flavonoides exercem diversas funções destacando-se a proteção da radiação UV, a proteção contra microrganismos, ação antioxidante, inibição enzimática, entre outras (Nijveldt *et al.*, 2001).

2 - Definição e estrutura Química

Os flavonoides constituem um grupo de polifenóis, metabolitos secundários de plantas com origem na biossíntese a partir da via chiquimato e da via acetato (Beecher, 2003). A biossíntese ocorre através da combinação dos ácidos chiquímico e acilpolimalonato. O fenilpropano, derivado do ácido cinâmico, e sintetizado a partir do ácido chiquímico, age como precursor na síntese de um intermediário ao qual são depois adicionados três resíduos de acetato ocorrendo ciclização da estrutura (Fig.2) (Di Carlo *et al.*,1999). As hidroxilações e reduções que ocorrem posteriormente originam as diferentes formas de flavonoides (Di Carlo *et al.*,1999).

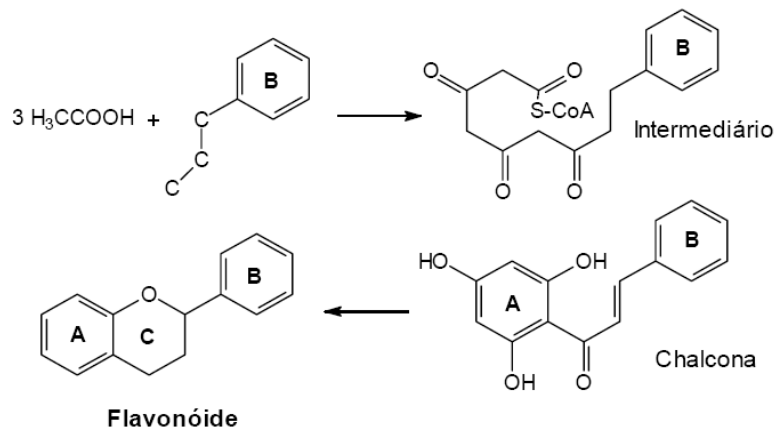


Figura 2. Biossíntese dos flavonoides

Fonte: Adaptado de Di Carlo *et al.*, 1999

Os flavonoides são definidos quimicamente como substâncias compostas por um núcleo, o qual é constituído por três anéis fenólicos (Tapas *et al.*, 2008). O primeiro anel benzênico (Anel A) é condensado com o sexto carbono do terceiro anel (Anel C), que na posição 2 carrega um grupo fenil como substituinte (Anel B) (Beecher, 2003; Sandhar *et al.*, 2011). Devido ao facto deste terceiro anel apresentar-se na forma de um anel pirona é responsável pela formação da maioria das diferentes classes destes compostos, recebendo a denominação de núcleo 4 – oxo – flavonoide (Fig.3) (Sandhar *et al.*, 2011).

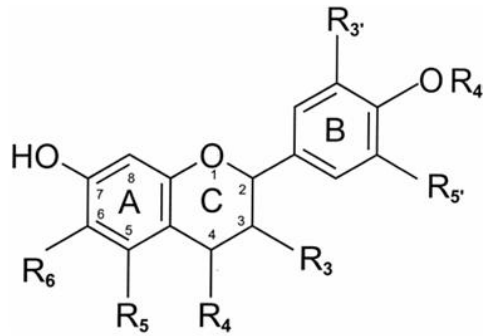


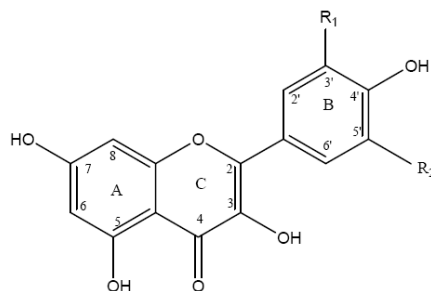
Figura 3. Estrutura base dos flavonoides mais comuns (presentes em alimentos), com anéis e posições numeradas.

Fonte: Adaptado de Beecher, 2003.

Os flavonoides pertencem a um ampla classe de substâncias químicas de origem natural, cuja síntese não ocorre em seres humanos. Contudo, apresentam uma série de propriedades farmacológicas que lhes permite atuar em sistemas biológicos e assim favorecer a saúde humana (Peterson *et al.*,1998).

Até à atualidade mais de 8000 diferentes flavonoides foram descritos, sendo as suas principais classes os flavonóis (Fig.4), flavonas (Fig.5), flavanonas (Fig.6), flavanas (Fig.7), isoflavonoides (Fig.8) e antocianinas (Fig.9). As principais classes e características dos flavonoides estão descritas na Tabela 1 (Bhagwat, S., 2011; Di Carlo, *et al.*, 1999; Marchand, 2002; Sandhar *et al.*, 2011;Yang *et al.*,2001).

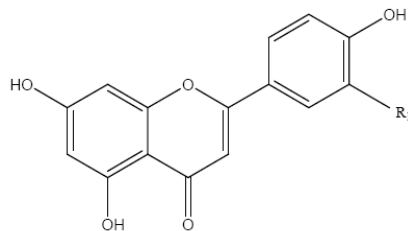
Todos estes flavonoides podem ser isolados mediante diferentes técnicas cromatográficas (cromatografia em coluna aberta, cromatografia líquida de alta eficiência, e cromatografia fina de alta eficiência) e identificados por espectrofotometria de massa e ressonância magnética nuclear.



Flavonol	R1	R2
Quercetina	OH	H
Campferol	H	H
Mircetina	OH	OH

Figura 4. – Estrutura química dos flavonóis

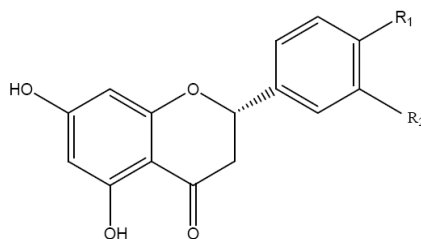
Fonte: Adaptado de Bhagwat *et al.*, 2011



Flavona	R1
Apigenina	H
Luteolina	OH

Figura 5. – Estrutura química das flavonas

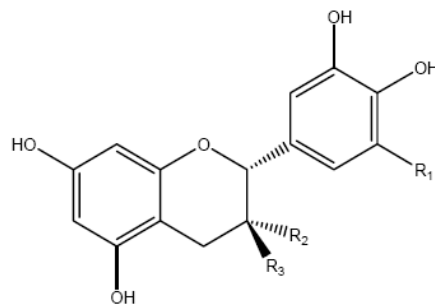
Fonte: Adaptado de Bhagwat *et al.*, 2011



Flavanonas	R1	R2
Hesperetina	OH	OMe
Naringenina	H	OH

Figura 6. – Estrutura química dos flavanonas

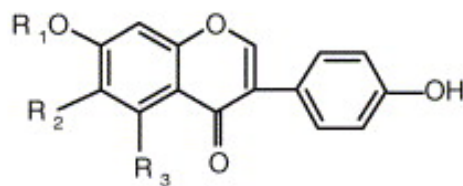
Fonte: Adaptado de Bhagwat *et al.*, 2011



Flavanas	R1	R2	R3
Catequinas	H	H	OH
Epicatequinas	H	OH	H

Figura 7. – Estrutura química das flavanas

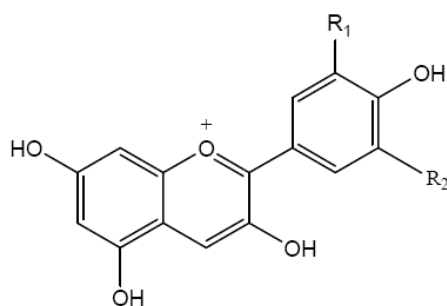
Fonte: Adaptado de Bhagwat *et al.*, 2011



Isoflavonoides	R1	R2	R3
Daidzeína	H	H	H
Genisteína	H	H	OH

Figura 8. – Estrutura química dos Isoflavonoides

Fonte: Adaptado de Bhagwat *et al.*, 2011



Antocianinas	R1	R2
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Peonidina	OMe	H

Figura 9. –Estrutura química das antocianinas

Fonte: Adaptado de Bhagwat *et al.*, 2011

Tabela 1. Principais subclasses e características dos flavonoides

Subclasses de Flavonoides	Ligação do anel B ao anel C	Grupos funcionais no anel C	Exemplos	Presença nos alimentos
Flavonóis	2	3 – Hidroxi 4 – Oxo	Quercetina Miricetina Rutina Campferol	Vegetais, maioria dos frutos.
Flavonas	2	4 – Oxo	Luteolina Apigenina	Especiarias, cereais, frutos.
Flavanonas	2	4 – Oxo	Hesperidina Naringenina	Frutos cítricos.
Flavanas	2	3 – Hidroxi	Catequina Epicatequina Teaflavina	Chás, uvas e vinho tinto.
Isoflavonoides	3	4 – Oxo	Daidzeína Genisteína	Maioria dos legumes, principalmente soja.
Antocianinas	2	3 – Hidroxi	Cianidina Delfinidina Peonidina	Frutos Vermelhos

Fonte: Adaptado de Beecher, 2003

A confecção de alimentos pode por vezes resultar na perda destes compostos, em maior ou menor grau, variando de acordo com o tipo de alimento e a preparação a que é sujeito. No entanto, os flavonoides são compostos relativamente estáveis, pois podem resistir à oxidação, temperaturas elevadas e variações de acidez (Havsteen, 2002).

3 - Atividade antimicrobiana

Segundo Cushnie e Lamb (2005), durante séculos preparações contendo flavonoides e os constituintes fisiologicamente ativos foram usados por médicos e curandeiros na tentativa de travar diversas doenças humanas. Por exemplo, as propriedades curativas do própolis foram todas descritas no antigo testamento, sendo este bálsamo prescrito para o tratamento de feridas e úlceras por Hipócrates na Grécia Antiga (Cowan, 1999).

As propriedades antimicrobianas do própolis foram atribuídas principalmente aos seus flavonoides galangina e pinocembrin (Cushnie & Lamb, 2005).

A erva chinesa *Scutellaria baicalensis* constitui um outro exemplo destas propriedades. Esta erva começou a ser usada tanto a nível tópico como sistémico para o tratamento de abscessos periodontais e infeções bucais há milhares de anos. Os efeitos antimicrobianos desta erva foram atribuídos à flavona baicaleína (Cushnie & Lamb, 2005).

i – Atividade antifúngica

Novas infeções fúngicas têm vindo a crescer devido ao progressivo aumento de doenças oncológicas e doenças infecciosas. Por outro lado, o aumento da utilização de agentes antifúngicos também resultou do desenvolvimento de resistência aos mesmos, tornando-se necessário descobrir novas classes de produtos, nomeadamente de origem natural (e derivados). As plantas são fontes ricas de uma grande variedade de metabolitos ativos tais como, taninos, terpenoides, alcaloides e flavonoides que têm sido relatados devido às suas propriedades antifúngicas testadas *in vitro* (Arif *et al.*, 2011; Salas *et al.*, 2011; Serpa *et al.*, 2012).

Devido à ampla capacidade dos flavonoides em inibir a germinação de esporos patogênicos em plantas, estes têm sido também propostos frequentemente também para combater infecções causadas por fungos no homem (Salas *et al.*, 2011).

A atividade antifúngica deve-se provavelmente à capacidade destes compostos em formar complexos com proteínas solúveis presentes nas paredes das células fúngicas (Arif *et al.*, 2011).

Por outro lado, a natureza lipofílica dos flavonoides é também capaz de romper as membranas dos fungos (Arif *et al.*, 2011; Salas *et al.*, 2011).

A atividade antifúngica de uma série de flavonas preniladas purificadas a partir de cinco diferentes plantas medicinais da família *Moraceae* foram descritas como potentes antifúngicos contra *C.albicans* e *S. cerevisiae* (Arif *et al.*, 2011).

A flavanona prenilada isolada de folhas de *Eysenhardtia texana*, 5,7,4' - trihidroxi – 8 - metil6- (3-metil[2-butenil])-(2S)-flavanona e a 7 – hidroxí-3',4'-(metilenodioxí)flavana isolada do fruto de *Terminalia bellerica* demonstrou também exercer atividade contra o fungo *Candida albicans* (Arif *et al.*, 2011).

A capacidade antifúngica da baicaleína (constituente da flavona *Scutellaria baicalensis*) foi descrita contra espécies de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida parapsilosis*. Destaca-se também um papel promissor relativamente ao sinergismo desta flavona com fluconazol contra infecções por *Candida* (Serpa *et al.*, 2012).

Por outro lado, duas outras flavonas extraídas da *Artemisia giraldi* (6,7,4'-trihidroxi3',5'-dimetoxiflavona e 5,5'-dihidroxi8,2',4'-trimetoxiflavona e 5,7,4'-trihidroxi-3',5' - dimetoxiflavona) foram descritas pela sua atividade contra *Aspergillus flavus*, um fungo responsável por diversas doenças invasivas em doentes imunodeprimidos (Salas *et al.*, 2011).

O flavonol galangina extraído da própolis demonstrou atividade inibitória de *Aspergillus tamaris*, *Aspergillus flavus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium digitatum* e *Penicillium italicum*. A galangina derivada da erva *Helichrysum aureonitens* também foi relatada pela sua atividade contra uma vasta gama de fungos (Arif *et al.*, 2011; Sandhar *et al.*, 2011).

ii – Atividade antivírica

Segundo Friedeman (2007), as contaminações víricas dos alimentos bem como a infecção de animais e humanos é uma das maiores causas de numerosas doenças pandêmicas.

A atividade antivírica dos flavonoides constitui uma área de investigação que se baseia particularmente na aparente ação destes compostos se comportarem como antioxidantes, inibirem enzimas, destruírem membranas celulares, prevenirem a penetração e ligação do vírus às células e desencadearem mecanismos de auto – defesa do hospedeiro (Cushnie & Lamb, 2005; Havsteen, 2002).

Até a data, realizaram-se diversos estudos que incidem nesta área de atividade, destacando-se a atividade antivírica de alguns flavonoides contra o vírus da imunodeficiência humana (VIH), adenovírus, rotavírus, vírus Epstein – Barr (EBV), Herpes simplex e Influenza vírus (Friedman, 2007). Os flavonoides mais pesquisados com atividade antivírica pertencem á classe das flavanas e são eles, algumas catequinas, epicatequinas e teaflavinas (Friedman, 2007; Sandhar *et al.*, 2011). Por outro lado, existem também alguns dados quanto a este tipo de atividade por parte de algumas flavonas (Vrijssen *et al.*, 1988; Chiang *et al.*, 2003).

A atividade de um grupo de três flavonas (quercetina, luteolina e 3 – metilquercetina) foi também avaliada quanto á sua capacidade antiviral. Verificou-se que estas três flavonas apesar de não serem virucidas, exibiam atividade antipoliiovírus. Este efeito foi demonstrado pela diferença destes três compostos na posição 3 do anel C (Fig. 10). A flavona 3 – metilquercetina demonstrou ser o composto mais ativo (R = OCH₃) seguindo –se a quercetina (R= OH) e luteolina (R = H) aquando na presença do antioxidante ascorbato contra a degradação oxidativa (Vrijssen *et al.*, 1988).

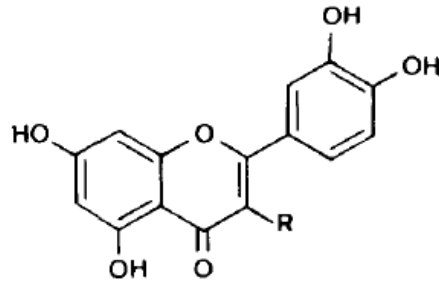


Figura 10. Estrutura química das flavonas luteolina (R = H), quercetina (R= OH), 3 – metilquercetina (R = OCH₃).

Fonte: Adaptado de Vrijsen *et al.*, 1988.

A quercetina, extraída de *Caesalpinia pulcherrima* uma erva muito utilizada na medicina tradicional Chinesa foi testada experimentalmente quanto à sua influencia antiviral em vírus do herpes (HSV – 1, HSV – 2) e adenovírus (ADV-3, ADV – 8, ADV – 11). O mecanismo de ação contra estes vírus demonstrou ser a inibição precoce das fases de multiplicação dos mesmos, apresentando maior atividade para as estirpes HSV -1 e ADV-3 (Chiang *et al.*, 2003).

iii – Atividade antibacteriana

Nos últimos anos, a frequente utilização de antibióticos tem vindo a originar o desenvolvimento de resistências a bactérias patogénicas, incluindo *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina (MRSA) e *enterococcus* resistentes à vancomicina (VRE). Por esta razão, as infeções bacterianas tornaram-se uma das causas mais comuns de mortalidade (Chen *et al.*, 2005; Mukne *et al.*, 2011; Xu & Lee, 2001).

Uma vez que, os antibióticos mais utilizados são constituídos por microrganismos isolados, é importante procurar novos componentes antibacterianos através de novos recursos (Chen *et al.*, 2005; Fowler *et al.*, 2011).

Um estudo realizado por Ali e colaboradores demonstrou que a crisina (5 - 7 – dihidroflavona) era capaz de inibir o crescimento de bactérias Gram – negativas tais como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. No mesmo estudo, verificaram que a baicaleina apresentava um fraco poder anti bacteriano contra as bactérias Gram –

positivas *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* devido a um grupo adicional em C - 6 (Ali *et al.*, 1998).

De acordo com Bylka e colaboradores, a flavona apigenina apresenta atividade contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*. De acordo com os mesmos autores, um outro estudo provou que a flavanona naringenina é ativa contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* (Bylka *et al.*, 2004).

Os isoflavonóides que apresentam grupos prenil são dotados de grande atividade bacteriana contra bactérias Gram – positivas tais como, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*. Esta atividade aumenta quando os grupos prenil se encontram nas posições C – 6 ou C – 8 no anel A e em C – 3' ou C – 5' no anel B (Bojase *et al.*, 2002; Mukne *et al.*, 2011).

Segundo Wang e colaboradores, a maioria dos antibacterianos exibe atividade através da inibição da enzima DNA topoisomerase e desta forma, interferindo na replicação de DNA, e expressão e recombinação de genes. Através desta teoria, conseguiram provar que a isoflavona extraída da soja, é capaz de inibir significativamente a atividade da DNA topoisomerase através da formação de complexos que interferem com as ligações a esta enzima (Wang *et al.*, 2010).

A administração de vancomicina consiste num antibiótico glicopeptídeo utilizado no tratamento de infecções causadas por organismos resistentes. A pesquisa dos flavonoides como compostos ativos contra este tipo de resistências tem-se revelado importante devido à fraca toxicidade que estes compostos apresentam (Alcaráz *et al.*, 2000; Sato *et al.*, 1996; Xu & Lee, 2001).

Xu e Lee testaram 38 flavonoides diferentes. Verificaram que os flavonoides ativos contra *Staphylococcus aureus* resistentes á meticilina (MRSA) eram polihidroxilados tais como, miricetina, datiscetina, quercetina, luteolina e campferol. No entanto, apenas a miricetina demonstrou ser ativa contra enterococcus resistentes à Vancomicina (VRE), *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. Esta atividade foi descrita de acordo com a síntese de proteínas. Relataram que apenas os derivados polihidroxilados (à exceção das flavonas) são ativos contra MRSA. A presença de pelo menos um grupo hidroxilo nos anéis A e B (C – 3 e C – 7) aumenta a atividade. Compostos sem grupos

hidroxilo ou substituídos por grupos metoxi resultam em perda de atividade (Xu & Lee, 2001).

No que se refere à relação estrutura atividade antibacteriana, de acordo com Mukne e colaboradores (2011) a presença de um grupo prenilo em C - 6, no caso das isoflavonas como por exemplo a genisteína, aumenta significativamente a atividade antibacteriana contra *S.aureus* e MRSA.

De uma forma geral, o efeito antibacteriano dos flavonoides deve-se também à atribuição de grupos fenólicos hidroxilo que apresentam afinidade para as proteínas e, por essa razão, atuam como inibidores de enzimas bacterianas, assim como interferem nas suas vias de síntese (Alcaráz *et al.*, 2000; Àvila, *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2012 Sato *et al.*, 1995).

Por outro lado, a substituição do conjunto de anéis dos flavonoides com grupos prenilo é realizada normalmente com o intuito de aumentar a lipofilicidade e conseqüentemente aumenta a atividade antibacteriana através da interação com as membranas celulares (Àvila, *et al.*, 2008; Mishra *et al.*, 2009; Mukne *et al.*, 2011; Ozçelik *et al.*, 2008).

Outro, aspecto importante que tem sido alvo de estudo na atividade antibacteriana são os biofilmes. Este tipo de biofilmes formados por bactérias patogênicas provoca diversos problemas na saúde humana tais como, fibrose cística, prostatite, e periodontite. Uma vez que os biofilmes desempenham um papel importante na patogênese bacteriana e resistência aos antibióticos, os inibidores de biofilmes vão auxiliar o combate de doenças infecciosas (Winter *et al.*, 1989; Lee *et al.*, 2011).

Recentemente, diversos flavonoides demonstraram ser capazes de inibir a formação de biofilmes de *Streptococcus mutans*, *Aeromonas hydrophila* e *Escherichia coli* O157:H7 (Lee *et al.*, 2011).

Alguns flavonoides como naringenina, campferol e a quercetina são capazes de reduzir a formação de biofilme em *V.harvey* e *E.coli* O157:H7 (Winter *et al.*, 1989).

Lee e colaboradores em 2011 descobriram que a fletetina, um flavonoide natural era inibidor não tóxico do biofilme de *E.coli* O157:H enterohemorrágica, sem prejudicar os

biofilmes comensais de *E.coli*, através de mecanismos de adesão a proteínas, di – GMP cíclico (guanosina monofosfato cíclico), reação indol e fagos (Lee *et al.*, 2011).

iv – Atividade antiparasitária

Tripanossomíase Humana (TH) ou doença do sono e Leishmaniose constituem duas das maiores doenças parasitárias da Organização Mundial da Saúde (OMS) que afetam milhões de pessoas na África, Ásia e América do Sul (Wong *et al.*, 2009). São consideradas doenças reemergentes principalmente devido á deterioração dos serviços de saúde em áreas endêmicas (Matsuda *et al.*, 2004; Wong *et al.*, 2009).

Na ausência de vacinas eficazes e controlo do vetor, a quimioterapia continua a desempenhar um papel crítico no controlo da infeção da Leishmaniose. No entanto, a maioria dos tratamentos disponíveis apenas são eficazes durante a primeira fase da doença ou são difíceis de administrar devido á sua elevada toxicidade (Wong *et al.*, 2009).

Os produtos naturais constituem importantes fontes de novos medicamentos, porque os seus derivados são extremamente úteis como estruturas de modificação sintética e otimização de bioatividade. Os flavonoides têm sido alvo de investigação também nesta área (Sulsen *et al.*, 2007).

Matsuda e colegas, demonstraram que a quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxiavona) é um potente imunomodulador capaz de induzir diretamente a morte por apoptose de *Trypanosoma brucei gambiense*, um agente causador da TH, sem afetar a viabilidade normal das células. Por outro lado, verificaram que além da atividade microbicida, causa diminuições dos níveis de TNF e de óxido nítrico (NO) produzido por macrófagos humanos ativados. Estes resultados destacam o uso da quercetina como potencial antimicrobiano e agente anti-inflamatório para o tratamento da Tripanossomíase (Matsuda *et al.*, 2004).

Uma vez que, todos os organismos vivos, incluído *Leishmania sp.* requerem ferro (Fe) para o seu crescimento e sobrevivência, um outro estudo, avaliou a possibilidade de desenvolver drogas leishmanicidas através da intervenção no metabolismo de ferro do parasita, utilizando a quercetina sob condições *in vivo*, e identificando o alvo deste quelante lipofílico contra *Leishmania donovani* (Sen *et al.*, 2008).

Wong e colegas em 2009 verificaram o efeito sinérgico da quinacrina e um novo dímero da apigenina (composto 9d) no tratamento da Leishmaniose.

As atividades tripanocida e leishmanicida também foram relatadas para a hispidulina proveniente de *Ambrosia tenuifolia* e a santina extraída de *Eupatorium bunnifolium* (Sulsen *et al.*, 2007).

Albrecht e colaboradores (1999) verificaram que a peonidina, uma antocianida isolada de sementes de milho, apresenta capacidade de induzir *Triphysaria versicolor*, uma doença parasitária muito comum na raiz das plantas.

No que se refere à relação estrutura – atividade antiparasitária, e de acordo com os estudos realizados por Tasdemir *et al.*, (2006), foi possível concluir que a quercetina e derivados (7,8 – dihidroxiflavona) são anti protozoários potentes e eficazes. Verificaram que a maioria dos compostos mais ativos que apresentam atividade tripanocida e leishmanicida têm uma estrutura típica de flavona (2,3 e C - 4 da função ceto) e/ou uma subestrutura de catecol sem obstáculos no anel B, no esqueleto benzocromona e em 7,8 – dihidroxiflavona. Outro aspeto averiguado nestes estudos relativamente a flavonas e flavonóis, diz respeito ao fato de a metilação dos grupos OH reduzir significativamente a atividade leishmanicida.

4 – Atividade imunomoduladora e anti - inflamatória

O sistema imune integra um grupo de células complexas reguladas intrinsecamente e cuja função é essencial para a saúde. As células do sistema imune podem interagir entre si ou responder a estímulos intracelulares tais como hormonas, citoquinas e autacóides. Por outro lado, a atividade do sistema imune pode ainda ser modificada através de agentes farmacológicos, fatores ambientais e químicos naturais provenientes da alimentação como por exemplo, flavonoides e vitaminas (García – Lafuente *et al.*, 2009; Middleton *et al.*, 2000).

O efeito dos flavonoides em linfócitos B e T, macrófagos, células natural killer (NK), basófilos, neutrófilos, eosinófilos e monócitos tem sido muito investigado nos últimos anos (Cerqueira *et al.*, 2003; Chirumbolo *et al.*, 2010; Middleton *et al.*, 2000).

Segundo Havsteen (2002), têm sido realizadas diversas pesquisas que dizem respeito à atividade dos flavonoides na ativação de linfócitos T (CD8) e células NK citotóxicas. No entanto, não se conhece nenhum mecanismo de ação simples que possa explicar este fenômeno, embora se pense ser devido a uma inibição da ciclooxigenase (COX), uma vez que as prostaglandinas (PGs) são capazes de eliminar os linfócitos T.

O mecanismo de inibição exercido por alguns flavonoides em enzimas como a ciclooxigenase e lipoxigenase tem revelado algum interesse. A quercetina e apigenina possuem atividade anti-inflamatória pela inibição das enzimas COX – 2 e óxido nítrico sintetase (Havsteen, 2002). A quercetina e a luteolina demonstraram também atividade na ativação do sistema complemento, diminuindo assim a chamada das células inflamatórias ao endotélio e por consequência, reduzindo a resposta inflamatória (Sandhar *et al.*, 2011).

Cerqueira e colaboradores em 2003, estudaram os efeitos de oito flavononas preniladas, artelastina, artelastina, artelastocarpina, artelastocromeno, artelastofurano, artocarpesina, carpelastofurano e ciclocmunina, na produção de NO (Cerqueira *et al.*, 2008). Com este estudo, verificaram que, a maioria das flavonas eram capazes de diminuir a produção de NO, não exercendo efeito tóxico ao nível dos macrófagos (Cerqueira *et al.*, 2008).

Cerqueira e colaboradores (2003) avaliaram ainda o efeito das oito flavononas preniladas previamente isoladas de *Artocarpus elasticus* na proliferação de linfócitos. Verificaram que existia uma relação entre a atividade anti proliferativa e a estrutura química destes compostos. As flavonas mais potentes possuíam um grupo 3,3-dimetillalil (prenilo) em C - 8, tal como artelastina, flavona que exibiu a maior atividade anti proliferativa. Estudos sobre o mecanismo subjacente e o seu efeito revelaram que a artelastina apresentava um efeito inibidor irreversível sobre a proliferação de linfócitos induzida pela fitohemaglutinina (PHA) e pode afetar a resposta mitogénica em curso, quer numa fase inicial, quer durante a fase tardia da proliferação. Esta flavona prenilada também foi indicada como sendo um inibidor potente de linfócitos B e T. Verificou-se ainda que a artelastina não influencia os níveis basais do marcador precoce de ativação CD69 nos esplenócitos não estimulados, nem a sua expressão em ConA-LPS ou esplenócitos estimulados. Contudo, verificou-se a diminuição da produção de IFN- γ , IL-2, IL-4 e IL-

10 em ConA esplenócitos estimulados. Além disso, artelastina demonstrou não ter qualquer efeito na apoptose de esplenócitos.

Tendo em consideração que estes linfócitos constituem uma segunda linha de defesa do sistema imune contra a invasão por bactérias, vírus e outros organismos estranhos, é importante considerar também mecanismos de ação indiretos (Chirumbolo *et al.*, 2010; Havsteen, 2002).

Middleton e colaboradores (2000) relataram que a fisetina e a quercetina constituem potentes inibidores da modificação de macrófagos de lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Embora os flavonoides modulem macrófagos estimulantes da oxidação de LDL, possivelmente isto ocorre através da inibição de hidroperóxidos lipídicos (Middleton *et al.*, 2000). Este mecanismo de oxidação ainda não é totalmente conhecido mas sabe-se que os flavonoides podem reduzir a formação e libertação de radicais livres nos macrófagos ou proteger o α – tocoferol de LDL (García – Lafuente *et al.*, 2009; Middleton *et al.*, 2000).

A quercetina também revelou ter um efeito imunossupressor sobre o funcionamento das células dendríticas. Por sua vez, a baicaleína isolada de raízes de *Scutellaria baicalensis* demonstrou atividade anti-inflamatória ao mesmo tempo que, inibe os fatores ativadores do plasminogénio afetando a fibrinólise (Chirumbolo *et al.*, 2010).

5 – Outras atividades biológicas

Os flavonoides são muito estudados devido às suas inúmeras propriedades biológicas e medicinais, como por exemplo: atividade antioxidante, atividade vascular, atividade citotóxica e anti tumoral. (Nijveldt *et al.*, 2001).

i - Atividade antioxidante

A atividade antioxidante é uma das suas propriedades mais estudadas neste grupo de compostos (Harborne & Williams, 2000).

Os flavonoides demonstraram ter ação inibidora de diversas espécies oxidantes como anião superóxido (O_2^-), radicais hidroxil e peroxi (Sandhar *et al.*, 2011).

De uma forma geral, a atividade antioxidante está relacionada com a estrutura do flavonoide, dependendo assim do número de substituintes hidroxil que apresenta na sua constituição. Assim, quanto maior o número de substituintes hidroxilo, mais forte será a atividade do composto flavonoide (Havsteen, 2002).

As flavonas e as catequinas demonstraram ser os flavonoides mais poderosos na proteção do corpo contra espécies de radicais livres que são produzidos durante o metabolismo normal do oxigênio (Tapas *et al.*, 2008).

Estes radicais reativos têm sido incluídos como contributos de diversas doenças crônicas tais como doenças cardiovasculares, cancerígenas, inflamatórias e hepáticas, razão pela qual o seu estudo se tornou essencial (Harborne e Williams, 2000).

Em diversos estudos estrutura – atividade realizados, os flavonoides revelaram possuir capacidade de inibir enzimas importantes como a NADH oxidase na respiração mitocondrial (Nijveldt *et al.*, 2001).

ii - Inibição enzimática

De acordo com Havsteen (2002), existem numerosas enzimas inibidas pelos flavonoides tais como, hidrolases, isomerases, oxidoreduções, ADN (ácido desoxirribonucleico) sintetases, ANR (ácido ribonucleico) polimerases, fosfatases, oxigenases, entre outras. A inibição exercida pelos flavonoides pode ser competitiva, mas na maioria das situações é alostérica.

As hialuronidases (hidrolases) despolimerizam o ácido hialurônico em oligossacarídeos através da quebra de ligações glucosaminicas (Havsteen, 2002). O flavonol campferol revelou inibir competitivamente esta enzima (Middleton *et al.*, 2000).

ADN topoisomerases são enzimas que introduzem quebras em sequências lineares de ADN. Participam em processos como replicação, transcrição, recombinação, integração e transposição (Middleton *et al.*, 2000; Havsteen, 2002). De acordo com o estudo de

Middleton e colaboradores (2000), a genisteína e quercetina são capazes de inibir ADN topoisomerase I e II através do aumento do complexo ADN – enzima nas células L1210.

Por outro lado, alguns flavonoides como a baicaleína e quercetina demonstraram também inibir a xantina oxidase, enzima que catalisa a formação de urato e o anião superóxido da xantina (Harborne & Williams, 2000; Middleton *et al.*, 2000).

iii - Atividade vascular e cardioprotectora

A disfunção endotelial contribui para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, aterosclerose e formação de coágulos arteriais (Harborne & Williams, 2000).

O consumo de flavonoides pode prevenir a disfunção endotelial através de um processo de vasorelaxamento que leva à diminuição da pressão arterial (Tapas *et al.*, 2008).

iii.1 - Efeitos anti ateroscleróticos

A modificação oxidativa de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) causada por radicais livres é um dos maiores contributos para a patogénese da aterosclerose (Tapas *et al.*, 2008). Os flavonoides atuam nestes radicais como uma cadeia protetora de antioxidantes. O quercetina e os seus glicosídeos demonstraram um efeito protetor significativo na proteção das LDL contra a modificação oxidativa (Tapas *et al.*, 2008; Sandhar *et al.*, 2011).

iii.2 - Efeitos anti trombogénicos

As plaquetas ao aderirem ao endotélio vascular originam a formação de peróxidos lipídicos e radicais livres que por sua vez inibem a formação endotelial de prostaciclina e óxido nítrico (Hodgson & Croft, 2010).

Em 1960 um dos diversos estudos realizados nesta área de atividade dos flavonoides demonstrou que um pigmento extraído do chá podia reduzir a coagulação sanguínea,

aumentar a fibrinólise e prevenir a agregação plaquetária (Harborne & Williams, 2000). Vários flavonoides como o quercetina, campeferol e mirecetina foram objeto de estudo pelas suas propriedades anti agregantes. Por outro lado, verificou-se que compostos como flavonóis são particularmente anti trombóticos devido a sua capacidade de neutralizar os radicais livres e manter uma concentração de prostaciclina e óxido nítrico apropriadas (Hodgson & Croft, 2010; Tapas *et al.*, 2008). Por outro lado, os flavonoides são designados de agentes antitrombóticos devido á inibição da atividade da ciclooxigenase e da lipoxigenase (Sandhar *et al.*, 2011).

iii.3 - Efeitos cardioprotectores

O potencial antioxidante dos flavonoides tem despertado um grande interesse devido aos benefícios que estes compostos apresentam na saúde (Harborne & Williams, 2000).

Estes compostos polifenólicos têm propensão a transferir iões, quelatar iões de ferro e suprimir espécies reativas de oxigénio. Devido a estas propriedades, os flavonoides foram considerados potenciais protetores da cardiotoxicidade crónica originada pelo uso do fármaco anti tumoral doxorubicina (Hodgson & Croft, 2010). O uso deste agente encontra-se condicionado devido à ocorrência frequente de cardiotoxicidade. O uso de flavonoides como inibidores desta patologia foi demonstrado em cobaias de laboratório (Tapas *et al.*, 2008).

iv- Atividade citotóxica e antitumoral dos flavonoides

O cancro constitui um grupo de doenças causadas por uma perturbação do metabolismo de crescimento. A origem é, de acordo com o consenso geral, a combinação de fatores endógenos e exógenos, que tendem a transformar as células normais em células cancerígenas (Havsteen, 2002; Sandhar *et al.*, 2011).

Os flavonoides são alguns dos grupos de produtos naturais anticancerígenos mais promissores que têm sido experimentados. Têm demonstrado ser muito eficazes contra moléculas oxidantes como por exemplo radicais livres que possivelmente estão envolvidos em danos que ocorrem ao nível do ADN e que promovem a proliferação das

células cancerígenas. Por outro lado, demonstraram capacidade de interferir com a iniciação, desenvolvimento e progressão das células cancerígenas pela modulação da proliferação celular, diferenciação, apoptose, angiogênese e metástase (Middleton *et al.*, 2000; Sandhar *et al.*, 2011).

A atividade antitumoral da catequina, um flavanol presente no chá verde, *Areca catechu*, *Crataegus oxyacantha*, *Cinnamomum cassia*, *Polygonum multiflorum*, *Rheum palmatum*, foi examinada usando modelos de invasão do tumoral. Verificou-se que este flavonoide em particular era capaz de inibir esta invasão e que a sua atividade pode estar relacionada com a sua capacidade de se ligar a um ativador tecidual do plasminogénio (t-PA) para a laminina, uma molécula de matriz extracelular, que desempenha um papel importante durante a adesão de células cancerígenas, conduzindo à inativação parcial do t-PA (Di Carlo, *et al.*, 1999).

Os isoflavonóides, bem como outros flavonoides podem inibir o ciclo celular e induzir a apoptose em células cancerígenas que se encontram em divisão (Sandhar *et al.*, 2011; Havsteen, 2002).

Diferentes estudos mostraram que os flavonoides, tais como a quercetina, genisteína e luteonina, afetam a sinalização do ciclo celular. No caso da quercetina, esta bloqueia o ciclo na fase G1/S e induz a apoptose em células cancerígenas (Sandhar *et al.*, 2011; Peterson *et al.*, 2003).

Di Carlo e colaboradores em 1999 verificaram que a quercetina também é capaz de inibir as células cancerígenas responsáveis pelo cancro da mama humano *in vitro* através da inibição da expressão da proteína da membrana plasmática P₅₃, uma proteína supressora tumoral que desempenha um papel importante na apoptose.

A genisteína demonstrou causar apoptose em culturas de células HL – 60 (células de leucemia promielocítica humana) em 8h. Por outro lado, verificou-se que este isoflavonóide bloqueava completamente os fatores EGF (Fator de crescimento epidérmico), TGF- α (Fator de crescimento transformador alfa), bFGF (Fator de crescimento básico dos fibroblastos), evitando a apoptose em células granulosas do ovário de ratos (Kanadaswami *et al.*, 2005).

Pedro e colaboradores em 2005 avaliaram a capacidade da flavona prenilada artelastina em inibir o crescimento de 52 linhas celulares tumorais humanas, representando nove diferentes tipos de tumores.

A inibição do crescimento foi detetada em todas as linhas celulares, com valores que variam GI50 0,8-20,8 uM. A atividade inibidora de crescimento da artelastina foi demonstrada na linha celular de células de cancro da mama MCF-7 (GI50 = 6,0 uM), verificando-se que esta flavona exerce um efeito bifásico na síntese de ADN de células MCF-7, um efeito estimulador em baixas concentrações (abaixo de GI50) para tempos curtos de exposição (6 h, 24 h), e um efeito inibidor em concentrações elevadas (acima GI50). Através de análises por citometria de fluxo de células tratadas com artelastina revelam uma acumulação na fase S, que interfere com a progressão do ciclo celular (Pedro *et al.*, 2005).

III - Conclusão

Os flavonoides têm sido alvo de muita pesquisa nos últimos anos, tendo sido relatada uma enorme variedade de potenciais efeitos benéficos.

Atualmente, o consumo de frutas, legumes e bebidas (por exemplo, chá e quantidades moderadas de vinho tinto), contendo flavonoides já é muito recomendado, embora ainda não se consiga fazer recomendações sobre a ingestão diária de flavonoides. No entanto, a maior parte das pesquisas tem envolvido estudos *in vitro* e, portanto, é difícil retirar conclusões definitivas sobre a utilidade dos flavonoides na dieta.

O estudo dos flavonoides é complexo devido à heterogeneidade que as diferentes estruturas moleculares apresentam bem como a escassa informação existente sobre a sua biodisponibilidade. Por outro lado, os métodos disponíveis ainda são insuficientes para medir o impacto destes compostos *in vivo* e desta forma, existe uma necessidade de melhorar as técnicas de análise para permitir a recolha de mais dados sobre a sua absorção e excreção.

Apesar dos progressos realizados na área da fitoquímica, ainda é muito aceite que os compostos fitoterápicos constituem agentes anti – infecciosos menos potentes que os agentes de origem microbiana como por exemplo, os antibióticos. No entanto, as novas classes de antimicrobianos são cada vez mais necessárias e os flavonoides são potenciais candidatos nesta área.

A futura otimização destes compostos através de alterações a nível estrutural pode permitir o desenvolvimento de agentes antimicrobianos farmacologicamente aceitáveis e suficientemente potentes para serem úteis como antifúngicos, antibacterianos, antivirais e antiparasitários. Por outro lado, a modificação estrutural dos compostos de fraca atividade (ou moderadamente ativos) torna-se uma área de investigação muito produtiva na medida em que proporciona a investigação sobre os mecanismos de ação destes compostos.

A capacidade dos flavonoides em modular a atividade de enzimática e a capacidade de afetar sistemas biológicos têm sido as principais razões atribuídas às diferentes

atividades dos flavonoides. Uma vez que, os flavonoides atuam como modificadores naturais de respostas biológicas, é importante que a investigação destas atividades continue já que os estudos aqui descritos são indicativos de possíveis novas áreas de terapêutica.

IV - Bibliografia

Albrecht, H., Yoder, J.I., Phillips, D.A. (1999) Flavonoids Promote Haustoria Formation in the Root Parasite *Triphysaria versicolor*. *American Society of Plant Physiologists*, 119, pp. 585 – 591.

Alcaráz, L.E., Blanco, S.E., Puig, O.N., Tomás, F., Ferreti, F.H. (2000). Antibacterial Activity of Flavonoids Against Methicilin – resistant *Staphylococcus aureus* strains. *J. theor. Biol.*, 205, pp. 231 – 240.

Ali, R., Houghton, P., Raman A., Hoult J.(1998). Antimicrobial and anti-inflammatory activities of extracts and constituents of *Oroxylum indicum*. *Phytomedicine*, 5, pp.375-81.

Arif, T., Mandal, T.K., Dabur, R. (2011). Natural products: Anti – fungal agents derived from plants.Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry, 81, pp, 283 – 311.

Ávila, P.H., Smânia, E.F.A., Monache, F.D., Júnior, A. S. (2008). Structure – activity relationship of antibacterial chalcones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, pp. 9790 – 9794.

Beecher G.R. (2003). Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake. *The Journal of Nutrition*, pp. 3248S – 3254S.

Bhagwat, S.,Haytowitz, D.B., Holden, J.M. (2011). USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods. *U.S. Department of Agriculture: Agricultural Research Center*, Release 3, pp. 10-12.

Bylka, W., Matlawska, I., Pilewski, N.A. (2004). Natural Flavonoids as Antimicrobial Agents. *Mylan School of Pharmacy*, 7(2), pp. 24 – 31.

Bojase, G., Majinda, R., Gashe, B., Wanjada, C. (2002). Antimicrobial flavonoids from *Bolusanthus speciosus*. *Planta Medica*, 68, pp. 615-620.

Cerqueira, F., Silva, A.C., Araújo, N., Cidade, H., Kijjoa, A., Nascimento, M.S.J. (2003). Inhibition of lymphocyte proliferation by prenylated flavones; Artelastin as a potent inhibitor. *Life Sciences*, 73, pp. 2321 – 2334.

Cerqueira, F., Cidade, H., Van Ufford, L, Beukelman, C., Kijjoa, A., Nascimento, M.S.J.. (2008). "The Natural Prenylated Flavone Artelastin is an Inhibitor of ROS and NO Production", *International Immunopharmacology* , 8 (4), pp. 597 - 602.

Chen, L., Cheng, X., Shi, W., Lu, Q., Go, V. L., Heber, D., Ma, L. (2005). Inhibition of Growth of *Streptococcus mutans*, Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus*, and Vancomycin – Resistant Enterococci by Kurarinone, a Bioactive Flavonoid Isolated from *Sophora flavescens*. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(7), pp. 3574 – 3575.

Chiang, L.C., Chiang, W., Liu, M.C., Lin, C.C. (2003). *In vitro* antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 52, pp., 194 – 198.

Chirumbolo, S. (2010). The Role of Quercetin, Flavonols and Flavones in Modulating Inflammatory Cell Function. *Inflammation & Allergy – Drug Targets*, 9(3), pp. 1 – 23.

Cowan, M.M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), pp. 562 – 584.

Cushnie, T., Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, pp. 343 – 356.

Cushnie, T., Lamb, A.J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38, pp. 99 – 107.

Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., Capasso, F. (1999). Old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Science*, Tucson, 65(4), pp. 337-353.

Fowler, Z.L., Shah, K., Panepinto, J.C., Jacobs, A., Koffas, M.A.G (2011). Development of Non – Natural Flavanones as Antimicrobial Agents. *PLoS one*, 6 (10), pp. 1 – 5.

Friedman, M. (2007). Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas. *Mol.Nutr. Food Res.*, 51, pp. 116 – 134.

García – Lafuente, A., Guillamón, E., Villares, A., Rostagno, M.A., Martinez, J.A. (2009). Flavonoids as anti – inflammatory agentes: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, 38, pp. 537 – 552.

Ghiasi, N., Taheri., S., Tafazzoli, M. (2010). Dynamic stereochemistry of rutin (vitamin P) in solution: theoretical approaches and experimental validation. *Carbohydrate Research.*, 345(12), pp. 1760 – 1766.

Harborne, J.B., Williams A.C. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, pp. 401 – 504.

Havensteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology and Therapeutics*, 96, pp. 67 – 202.

Hodgson, J.M., Croft K.D. (2010). Tea Flavonoids and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, 31, pp. 495 – 502.

Kanadaswami, C., Lee, L.T., Lee, P.P.H., Hwang J.J., Ke, F.C., Huang, Y.T., Lee, M.T. (2005). The Antitumor Activities of Flavonoids. *In vivo*, 19, pp. 895 – 910.

Kim, J.W., Park, S.C. (1998). Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents: An Overview from Korea. *Yonsei Medical Journal*, 39(6), pp. 488 – 494.

Lakhanpal, P., Rai, D.K. (2007). Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), pp. 22 – 37.

Lee, J.H., Regmi, S.C., Kim, J.A., Cho, M.H., Yun, H., Lee, C.S., Lee, J. (2011). Apple Flavonoid Phloretin Inhibits Escherichia coli O157:H7 Biofilm Formation and Ameliorates Colon Inflammation in Rats. *Infection and Immunity*, 79(12), pp. 4819 – 4827.

Li, Y., Luo, Y., Hu, Y., Zhu, D.D., Zhang, S., Liu, Z.J., Gong, H.B., Zhu, H.L. (2012). Design, synthesis and antimicrobial activities of nitroimidazole derivatives containing 1,3,4 – oxadiazole scaffold as FabH inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20, pp. 4316 – 4322.

Marchand, L. (2002). Cancer preventive effects of flavonoids - a review. *Biomed.Pharmacother.*, 56, pp. 296 – 301.

Matsuda, M.M., Rambert., J., Malvy, D., Boisseau, H.L., Daulouéde, S., Thiolat, D., Coves, S., Courtois, P., Vincendeau, P., Mossalayi, D. (2004). Quercetin Induces Apoptosis of *Trypanosoma brucei gambiense* and Decreases the Proinflammatory Response of Human Macrophages. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(3), pp. 924 – 929.

Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, C., (2000). The effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 52, pp. 673 – 751.

Mishra, U.S., Chakraborty, P., Dasgupta, A., Dastidar, S.G., Martins, M., Amaral, L. (2009). Potent Bactericidal Action of a Flavonoid Fraction Isolated from the Stem Bark of *Butea frondosa*. 23, pp. 29 – 32.

Mukne, A.P., Viswanathan, V., Phadataré, A.G. (2011). Structure pre – requisites for isoflavones as effective antibacterial agents. *Pharmacognosy Review*, 5(9), pp. 13 – 18.

Nijveldt, R.J., Nood, E.V., Hoorn D.V., Boelens P.G., Norren, K.V., Leeuwen P.V. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*, 74, pp. 418 – 425.

Ozçelik, B., Orhan, D.D., Ozgen, S., Ergun, F. (2008). Antimicrobial Activity of Flavonoids against Extended – Spectrum β – Lactamase (ES β L) – Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(4), pp. 1151 – 1157.

Pedro, M., Ferreira, M.M., Cidade H., Kijjoa, A., Rocha, E.B., Nascimento, M.S.J. (2005). Artelastin is a cytotoxic prenylated flavone that disturbs microtubules and interferes with DNA replication in MCF – 7 human breast cancer cells. *Life Sciences*, 77(3), pp. 293 – 311.

Peterson, J.D. (1998). Flavonoids: Dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18, pp. 1995 – 2018.

Peterson, J., Lagiou, P., Samoli, E., Katsouyanni, K., Vecchia, C.L., Dwyer, J., Trichopoulos, D. (2003). Flavonoid intake and breast cancer risk: a case – control study in Greece. *British Journal of Cancer*, 89(7), pp 1255 – 1259.

- Pietta, P., Mauri, P. (2001). Analysis of Flavonoids in Medicinal Plants. In: Abelson, J.N., Simon, M.I. (Ed.). *Methods in Enzymology*. California, P., California Institute of Technology, pp. 26 – 45.
- Rios, J.L., Recio, M.C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100, pp. 80 – 84.
- Salas, P.M., Céliz, G., Geronazzo, H., Daz, M., Resnik, S.L. (2011). Antifungal activity and enzymatically – modified flavonoids isolated from citrus species. *Food Chemistry*, 124, pp. 1411 – 1415.
- Sandhar, H.K., Kumar, B., Prasher, S., Tiwari, P., Salhan, M., Sharma, P. (2011). A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), pp. 25 – 41.
- Sato, M., Tsuchiya, H., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Yamaguchi, R., Kureshiro, H., Iinuma, M. (1996). Antibacterial activity of hydroxychalcone against methicilin – resistance *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 6, pp. 227 – 231.
- Sen, G., Muckhopadhyay, S., Ray, Biswas, T. (2008). Quercetin interferes with iron metabolism in *Leishmania donovani* and targets ribonucleotide reductase to exert leishmanicidal activity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61, pp. 1066-1075.
- Serpa, R., França, E., Maia, L., Andrade, C., Diniz, A., Furlaneto, M. (2012). In vitro antifungal activity of the flavonoid baicalein against *Candida* species. *Journal of Medical Microbiology*, 61, pp. 1704 – 1709.
- Shaohaib, T., Shafique, M., Dhanya, N., Divakar, M.C. (2011). Importance of Flavonoids in Therapeutics. *Journal of Drugs and Medicines*, 3(1), pp. 1 – 18.
- Sulsen, V.P., Cazorla, S.I., Frank, F.M., Redko, F.C., Anesini, C.A., Coussio, J.D., Maldchiodi, E.L., Martino, V.S., Muschietti L.V. (2007). Trypanocidal and Leishmanicidal Activities of Flavonoids from Argentine Medicinal Plants. *American Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 77(4), pp.654-659.

Tasdemir, D., Kaiser, M., Brun, R., Yardley, V., Schmidt, T.J., Tosun, F., Ruedi, P. (2006). Antitrypanosomal and Antileishmanial Activities of Flavonoids and Their Analogues: In Vitro, In Vivo, Structure – Activity Relationship and Quantitative Structure – Activity Relationship Studies. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(4), pp. 1352 – 1364.

Tapas, A.R., Sakarkar, D.M., Kakde, R.B. (2008). Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3), pp. 1089 – 1099.

Vrijssen, R., Everaert, L., Boeyé, A. (1988). Antiviral Activity of Flavones and Potentiation by Ascorbate. *J.gen. Virol.*, 69, pp. 1749 – 1751.

Wang, Q., Wang, H., Xie, M. (2010). Antibacterial mechanism of soybean isoflavone on staphylococcus aureus. *Arch Microbiol.*, 192, pp. 893 – 898.

Winter, J., Moore L.H., Dowell, V.R, Bokkenheuser, V.D. (1989). C – ring cleavage of flavonoids by human intestinal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, pp.1203 – 1208.

Wong, I.L.K., Chan, K.F., Zhao, Y., Chan, T.H., Chow, L.M.C. (2009). Quinacrine and novel apigenin dimer can synergistically increase the pentamidine susceptibility of the protozoan parasite *Leishmania*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63, pp. 1179 – 1190.

Xu, H.X., Lee, S.F. (2001). Activity of Plant Flavonoids Against Antibiotic – Resistant Bacteria. *Phytotherapy Research*, 15, pp. 39 – 43.

Yang C.S., Landan, J.M., Huang, M.T., Newman, H.L. (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Ann. Rev. Nutr*, 21, pp. 381 - 406.

Zhang, L.N., Cao, P., Tan, S.H., Gu, W., Shi, L., Zhu, H.L. (2008). Synthesis and antimicrobial activities of 7 – O – modified genistein derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43, pp.1543 – 1551.