



HESPERETINA: BIOFLAVONOIDE COM POTENCIAL TERAPÊUTICO PARA DESORDENS CARDIOVASCULARES

Eleine Renata Bidinha, Priscila de Souza, Rita Vilhena, Valdir Cechinel Filho

Área: Fitoquímica, Biotecnologia e Farmacologia de Plantas Medicinais

Introdução: Com grande importância na medicina moderna, os produtos naturais e seus derivados representam mais de 30% dos fármacos aprovados no mundo entre 1982-2014 (1). No desenvolvimento de novos medicamentos, destacam-se os metabólitos secundários obtidos de frutos e plantas medicinais da classe dos flavonoides, cujas ações benéficas foram comprovadas em diferentes desordens clínicas, incluindo contra patologias que acometem os sistemas cardiovascular e renal (2; 3). Dentre esses, destaca-se a hesperidina, uma molécula glicosilada que, após administração por via oral, é degradada pelas enterobactérias presentes no intestino e absorvida na sua forma aglicona chamada hesperetina. A concentração máxima da hesperetina tem sido captada em média 6h após a ingestão de frutas cítricas (4; 5). Por outro lado, quando consumida na forma de aglicona, é absorvida no intestino delgado, local onde a absorção ocorre mais rapidamente, com concentração máxima para hesperetina após uma hora da ingestão (5). A literatura descreve uma série de efeitos biológicos para a hesperetina, como atividade anti-inflamatória, anti-hipertensiva e antitrombótica (6; 7). Além disso, a hesperetina também demonstrou propriedades vasorrelaxantes (8), efeito inibitório sobre a proliferação de células do músculo liso vascular aórtico de ratos (9), além da ação benéfica em reduzir a pressão sanguínea sistólica de ratos hipertensos (10). Apesar da ampla gama de propriedades farmacológicas descritas e a vasta aplicação prática dessas flavanonas, não há, até o momento, dados pré-clínicos ou clínicos que explorem de forma detalhada os possíveis benefícios desses compostos nas DCV.

Objetivos: Investigar o efeito e mecanismo vasorrelaxante do bioflavonoide hesperetina em modelo de aorta isolada de ratos.

Metodologia: Foram utilizados ratos Wistar machos normotensos (NTR) e hipertensos (SHR), com três a quatro meses de idade, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade do Vale do Itajaí (CEUA/UNIVALI, número de aprovação n. 027/20). Os animais dos grupos NTR e SHR foram anestesiados e a aorta torácica descendente foi removida, limpa do seu tecido conjuntivo e seccionada em anéis. Os anéis foram colocados através de hastes de aço conectadas a transdutores em câmaras de vidro contendo solução nutritiva de Krebs, aerados constantemente com carbogênio, mantidos a uma temperatura de 37°C e sujeitas à tensão inicial de 1g. Os registros foram obtidos por meio de transdutores isométricos, acoplados a um hardware de aquisição de dados DATAQ Instruments conectado a um computador com integração de software específica, um amplificador de sinal e conectado a um computador contendo software de integração específico (software WinDaq, DATAQ Instruments, Akron, Ohio, EUA). Após o período de estabilização e verificação da integridade tecidual e endotelial, os anéis da aorta foram expostos a concentrações cumulativas de hesperetina, no platô



das contrações induzidas por Fen. Em outro conjunto experimental, a pré-incubação de L-NAME (100 mM), ODQ (100 μ M), Indometacina, Propranolol, TEA, Glibenclamida, e 4-AP, BaCl₂ foi utilizada para determinar o mecanismo dependente de endotélio envolvido no efeito vasorrelaxante induzido pela hesperetina. Os resultados obtidos foram comparados entre os grupos e expressos em delta de contração (g) ou porcentagem de relaxamento.

Resultados: As aortas obtidas de SHR apresentaram uma resposta de relaxamento de aproximadamente 92% após a adição de hesperetina (concentrações de 3 a 100 μ M), enquanto as aortas obtidas de NTR apresentaram um relaxamento de aproximadamente 42%, em preparações previamente contraídas pela adição de Fen 1 μ M. No tecido aórtico do grupo NTR, com a presença de L-NAME, houve relaxamento, demonstrando que a hesperetina não depende da ativação da enzima óxido nítrico sintase (NOS) para a promoção do seu efeito relaxante. O mesmo ocorreu na presença de ODQ, que é um inibidor da enzima guanilato ciclase solúvel, não havendo, portanto, redução da ação vasorrelaxante da hesperetina na presença deste inibidor. De maneira interessante, na presença de atropina, que é um antagonista de receptor muscarínico (M₃), houve um incremento no efeito relaxante da hesperetina. No tecido aórtico do grupo SHR, com a presença de L-NAME, ocorreu uma diminuição do relaxamento da hesperetina, demonstrando que, para esse grupo, o relaxamento depende, pelo menos em parte, da ativação do NOS. Já na presença de ODQ e atropina, o relaxamento não foi significativamente alterado. Como o efeito da hesperetina teve uma melhor resposta vasorrelaxante em vasos de SHR, aprofundamos os estudos de mecanismo de ação neste modelo experimental. Quando a indometacina (inibidor não-seletivo da enzima ciclooxigenase) ou o propranolol (antagonista não-seletivo de receptores β -adrenérgicos) foram incubados, o relaxamento induzido pela hesperetina não foi modificado. Quando os seguintes bloqueadores de canais de potássio foram incubados TEA (1 mM ou 10 mM), glibenclamida (10 μ M), cloreto de bário (BaCl₂, 10 μ M) ou 4-aminopiridina (4-AP, 1 mM) os efeitos vasorrelaxantes da hesperetina na presença e na ausência desses bloqueadores/inibidores não foram alterados.

Considerações finais: Este estudo mostra o efeito vasorrelaxante da hesperetina em anéis aórticos de NTR e SHR. Os resultados indicam que o relaxamento depende, pelo menos em parte, da ativação da via NO/GCs. Outros estudos serão conduzidos para aprofundamento dos mecanismos responsáveis pela ação relaxante do composto na vasculatura.

Financiamento ou apoio: Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina - Fapesc.

Referências

1) NEWMAN, D. J., CRAAG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*. v. 79, p. 629-661, 2016. 2) ARTS, I. C. W.; HOLLMAN, P. C. H. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 81, p. 317s-325s, 2005. 3) HOLLMAN, P. C.; GEELLEN, A.; KROMHOUT, D. Dietary flavonol intake may lower stroke risk in men and women. *J. Nutr.*, v. 140, p. 600-604, 2010. 4) MANACH, C.; MORAND, C.; GIL-IZQUIERDO, A.; BOUTELOUP-DEMANGE, C.; REMESY, C. Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of



orange juice. *European Journal of Clinical Nutrition*, v. 57, p. 235-242, 2003. 5) NIELSEN, I. L.; CHEE, W. S.; POULSEN, L.; OFFORD-CAVIN, E.; RASMUSSEN, S. E.; FREDERIKSEN, H.; ENSLEN, M.; BARRON, D.; HORCAJADA, M. N.; WILLIAMSON, G. Bioavailability is improved by enzymatic modification of the citrus flavonoid hesperidin in humans: a randomized, double-blind, crossover trial. *Journal of Nutrition*, v. 136, n. 2, p. 404-408, 2006. 6) GALATI E. M., et al. Biological effects of hesperidin, a Citrus flavonoid (Note III): Antihypertensive and diuretic activity in rat. *Farmaco* v. 51, p. 219-221, 1996. 7) GARG A., et al. Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytother Res* 15:655-669, 2001. 8) ORALLO, F., et al. 2004. Comparative study of the vasorelaxant activity, superoxide-scavenging ability and cyclic nucleotide phosphodiesterase-inhibitory effects of hesperetin and hesperidin. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. v. 370, n. 6, p. 452-463, 2004 9) JIN, Y. R., et al. 2008. Hesperetin, a bioflavonoid, inhibits rat aortic vascular smooth muscle cells proliferation by arresting cell cycle. *J Cell Biochem*. v. 104, n. 1, p. 1-14. 10) YAMAMOTO, M.; SUZUKI, A.; HASE, T. Short-term effects of glucosyl hesperidin and hesperetin on blood pressure and vascular endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, v. 54, n. 1, p. 95-98, 2008.