



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Mauro Thomé Dourado Cerdan

**Benefícios à saúde dos compostos**

**Eriodictiol, Hesperidina e suas formas derivadas.**

Araraquara, 2014

Mauro Thomé Dourado Cerdan

**Benefícios à saúde dos compostos**

**Eriodicitiol, Hesperidina e suas formas derivadas.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, da Universidade Estadual Paulista para obtenção do grau de Farmacêutico-Bioquímico.

**Orientadora:**

Profa. Dra. Thais Borges César

Araraquara, 2014

**Para:**

Luci Dourado

Mauro Aranha

Vinicius Cerdan

Francisca Dourado

e Hamilton Barbosa.

## **AGRADECIMENTOS**

Toda conquista é resultado de um esforço que se faz para obtê-la. Não só o esforço individual foi essencial para a elaboração desse trabalho, mas o esforço de pessoas que sempre me apoiaram e sem os quais não poderia ter se realizado.

Agradeço aos meus pais Luci Angela e Mauro Aranha, minha avó Francisca Brigida, meu irmão Vinicius Cerdan e a meu tio Hamilton Barbosa, que sempre acreditaram que eu pudesse realizar o feito de concluir o curso de graduação em Farmácia-Bioquímica.

Agradeço ao Programa de Educação Tutorial (PET) em nome do Prof. Dr. João Aristeu da Rosa, por ter propiciado uma formação diferenciada no curso de graduação e em minha formação, além de momentos dos quais me faz muito feliz recordar.

Meus agradecimentos também para a minha orientadora Profa. Dra. Thaís Borges César que me estendeu a mão num momento delicado para a realização desse trabalho, mas que fez de tudo para me ajudar a concluí-lo.

Minha gratidão também é dirigida aos excelentes professores e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara e grandes amigos que compartilharam grandes momentos juntos, a citar Evelin Costa, Sheila Nakashima, Rosa Luchetta, Taís Aguiar, Rodrigo Canato e Vinicius Ortiz.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	5
LISTA SIGLAS E ABREVIações.....	6
INTRODUÇÃO .....	7
FRUTAS CÍTRICAS.....	9
PROPRIEDADES GERAIS DOS FLAVONOIDES.....	10
ERIODICTIOL.....	13
HESPERIDINA .....	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	31

## RESUMO

Os flavonoides são compostos naturais presentes em diversos tipos de plantas e vegetais, quimicamente classificados como polifenóis e geralmente encontrados em sua forma livre ou glicosilada. Os compostos eriodictiol e hesperidina são flavonoides derivados de frutas cítricas, sendo o primeiro predominantemente presente no limão e o segundo em laranja. Seus principais efeitos quando consumidos por humanos incluem melhorias do sistema cardiovascular, efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos, anticâncer, antifertilidade, antinociceptivo, antioxidante entre outros. Os mecanismos principais envolvidos correspondem desde interações com enzimas regulatórias, à capacidade quelante de alguns flavonoides em sequestrar radicais livres. O uso de alternativas terapêuticas com o eriodictiol e a hesperidina já vem sendo utilizada há anos e os mecanismos propostos para a explicação de seus efeitos elucidados.

**Palavras-chave:** Flavonoides cítricos, eriodictiol, hesperidina, antioxidante, atividade biológica.

## LISTA SIGLAS E ABREVIações

- ADP – adenosina difosfato
- AINE – anti-inflamatório não-estereoidal
- ALT – alanina transaminase
- AST – aspartato transaminase
- CAT – catalase
- CERK – ceramida quinase
- DCV – doença cardiovascular
- DNA – ácido desoxirribonucleico
- DT – *o, o - dityrosine*
- ELISA – *enzyme linked immuno sorbent assay*
- GSH – glutationa reduzida
- HEL - *N<sup>ε</sup> - (hexanoyl)lysine*
- IgE – imunoglobulina E
- IL-4 – interleucina 4
- LDL – lipoproteína de baixa densidade
- NO – óxido nítrico
- NOS – óxido nítrico sintase
- Nrf2 - *Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2*
- NT - nitrotirosina
- PCA – anafilaxia cutânea passiva
- PH – hesperidina fosforilada
- ROS – espécies reativas de oxigênio
- SOD – superóxido dismutase
- TBARS – substâncias reativas ao ácido barbitúrico
- TRPV1 – receptor de potencial transiente valinóide 1
- UV – ultravioleta
- UV-B – ultravioleta tipo B
- VLDL – lipoproteína de baixíssima densidade

## INTRODUÇÃO

Os flavonoides são compostos naturais de baixo peso molecular, amplamente distribuídos no Reino *Plantae* como metabólitos secundários e podem ser encontrados na forma livre ou glicosilada. Ocorrem em praticamente todas as partes das plantas como as frutas (incluindo as diversas variedades de frutas cítricas), sementes, nozes, cascas além de vegetais e hortaliças. (Garg, A. et. al, 2001).

Os flavonoides são o grupo mais importante de compostos fenólicos e o mais largamente distribuído entre os vegetais, didaticamente subdivididos em: antocianinas (cianidina, delphinidina), flavanas (catequina, epicatequina, luteoforol, procianidina, theaflavina), flavanonas (hesperidina, naringenina, neohesperidina, narirutina), flavonas (apigenina, luteolina, diomestina, tangeritina, nobiletina, tricetina), flavonóis (quercetina, rutina, miricetina) e isoflavonóides (daidzeína, genisteína). (Moura, Lílian, 2010).

A concentração desses compostos varia de acordo com o tipo de fruta, amadurecimento, sazonalidades de clima, etc. Também depende da idade da planta, sendo que altas doses podem ser encontradas em tecidos com alta taxa de divisão celular. O flavonoide hesperidina, que pode ser encontrado em várias espécies de plantas do gênero *Citrus* e frutas verdes, possui efeitos no sistema vascular, como aumento da resistência dos vasos capilares, afetando diretamente a pressão arterial; efeitos anti-inflamatórios, antimicrobianos e também um efeito antifertilidade, o que demonstra o interesse no estudo desse composto como possível alternativa terapêutica para diversos tipos de medicamentos. (Garg, A. et. al, 2001).

Muitos dos seus efeitos se devem à capacidade dos compostos em interagir nos sítios alostéricos de enzimas regulatórias. Pesquisas também têm demonstrado



que os flavonoides cítricos são potencialmente agentes sequestrantes, e assim, capazes de agir em eventos degenerativos que envolvem espécies reativas de oxigênio, que causam grande dano às células (Benavente-García, et. al, 2008).

Mulvihill, (2012), Nie et al., (2012), Park (2013) estudaram propriedades de alguns flavonoides e seus extratos na prevenção da aterosclerose, efeitos anti-inflamatórios e hipoglicemiantes.

Assim, o objetivo desse trabalho foi revisar a Literatura Científica acerca do assunto flavonoides e focar nos efeitos de alguns deles, principalmente os encontrados em frutas cítricas, como o Eriodictiol e Hesperidina.

## FRUTAS CÍTRICAS

O possível efeito benéfico à saúde humana de alimentos em geral é devido à presença de micronutrientes, como vitaminas e minerais, e a compostos funcionais e antioxidantes, todas elas podendo ser chamadas de substâncias fitoquímicas. Podem ser definidas como substâncias encontradas em frutas e vegetais, que ingeridas diariamente, parecem demonstrar alguma modulação no metabolismo humano de maneira a favorecer e prevenir doenças crônicas e degenerativas (Tripoli, et. al, 2006).

As frutas cítricas são as principais fontes de importantes nutrientes. Elas contêm vitamina C, ácido fólico, fibras e compostos bioativos, como os carotenoides e flavonoides, que são supostamente responsáveis pela prevenção do câncer e de doenças degenerativas (Tripoli, et. al, 2006).

## PROPRIEDADES GERAIS DOS FLAVONOIDES

Segundo Grassi, et. al. (2008) e Erlund (2004) os flavonoides abrangem o grupo mais comum de polifenóis derivados de plantas e são responsáveis por fornecerem a maior parte do sabor e cor das frutas e vegetais. Mais de 6000 flavonoides já foram descritos e a sua ingestão total pode chegar a 1g por dia, enquanto a ingestão total de  $\beta$ -caroteno, vitamina C e vitamina E a partir da alimentação é menor que 100 mg por dia. Possuem uma estrutura molecular comum (C6-C3-C6) que consiste em dois anéis aromáticos ligados através de três carbonos geralmente formando uma núcleo com o átomo de oxigênio, que é descrito como *flavan nucleos*. Os diferentes padrões desse núcleo permite a classificação dos flavonoides em diversos subgrupos. Além desse fato, a estrutura básica dos flavonoides permite uma série de substituições no anel A e B como a adição de OH nos grupos fenil, ligação com açúcares a partir de hidroxilas já existentes nos anéis aromáticos, ligação com grupos metil, sulfatos e glucuronídeo.

Ainda segundo Grassi, et. al, (2008), uma grande gama de evidências demonstrou que o consumo de flavonoides na dieta parece ser responsável por alguns efeitos benéficos cardiovasculares, reduzem o risco de morbidade e mortalidade cardiovascular, além de contribuir na diminuição da incidência de Diabetes mellitus. Durante as décadas passadas houve inúmeras pesquisas interessadas nos benefícios que os flavonoides podem trazer. Estudos epidemiológicos reportaram uma relação inversa entre a ingestão de flavonoides e doença cardiovascular (CVD), além de mostrar melhorias nas funções do endotélio vascular, provavelmente devido a efeitos antioxidantes diminuindo espécies reativas de oxigênio (ROS) e afetando o sistema de vasodilatação do NO nos vasos,

deixando-o mais ativo; na reatividade plaquetária, redução da pressão arterial em humanos e inibição do desenvolvimento de aterosclerose em modelos animais, fatores que sabidamente são responsáveis pela redução do risco de doença cardiovascular.

De uma forma bastante simplista, elucida-se o processo de entrada e saída dos flavonoides no organismo humano da seguinte maneira: primeiro a substância precisa ser liberada pela digestão no estômago e trato gastrintestinal, é transportada pela membrana do intestino até o sangue, distribuída para os tecidos, metabolizada, exerce seus efeitos nos pontos que lhes concernem e por fim passam pelo processo de eliminação.

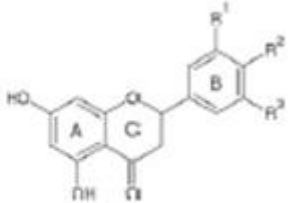
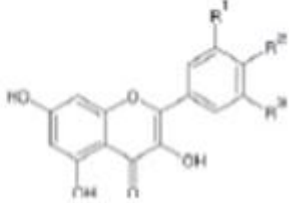
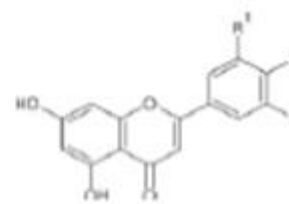
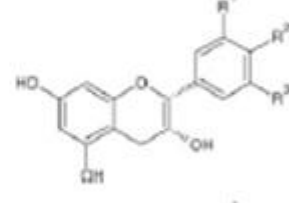
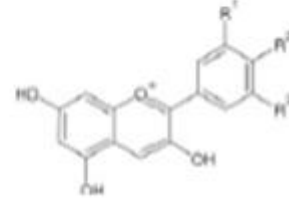
Campêlo, Lidiane M. L. et. al, (2011) estudaram em seu artigo de revisão os efeitos antioxidantes e antinociceptivos do óleo essencial de *Citrus limon*, popularmente conhecido como limoeiro, encontrado no Norte e no Nordeste do Brasil. Apesar de seus estudos não citarem explicitamente os flavonoides em seus extratos como essenciais para os efeitos por eles pesquisados, podemos supor que eles estavam presentes, pois o eriodictiol, substância comumente encontrada em espécies de limão e que será tratado no decorrer desse trabalho, apresenta esse efeito antioxidante e antinociceptivo citados pelos autores.

Prasain, et. al, (2010) comentam em seu trabalho o efeito dos flavonoides em doenças relacionadas com a idade como a osteoporose, câncer e doenças do cérebro. É importante ressaltar que os efeitos benéficos observados foram derivados de flavonoides de fontes não cítricas, mas que nada influencia em seus mecanismos de ação, uma vez que a estrutura do composto é que confere a sua atividade, não importando a fonte.

A relação entre os flavonoides e aterosclerose é relatada por Oliveira, Tânia et. al, (2010). Os efeitos principais são a de redução de lipídeos sanguíneos, a inibição da oxidação de LDL, atividade anti-inflamatória, vasodilatação e diminuição da agregação plaquetária, fatores que em conjunto diminuem o risco do desenvolvimento da aterosclerose, que por sua vez é fator de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular.

Kay, et. al, (2012), demonstra as classes de flavonoides conforme abaixo:

**Figura 1 – Estrutura molecular dos principais flavonoides**

Flavonoid (subclass)	Subclass structure	Subclass constituent	B-ring configuration <sup>41</sup>		
			R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
Flavanones		Naringenin	H	OH	H
		Eriodictyol	OH	OH	H
		Hesperetin	OH	O-CH <sub>3</sub>	H
		Taxifolin	OH	OH	H
Flavonols		Kaempferol	H	OH	H
		Quercetin	OH	OH	H
		Myricetin	OH	OH	OH
		Isorhamnetin	O-CH <sub>3</sub>	OH	H
Flavones		Apigenin	H	OH	H
		Luteolin	OH	OH	H
		Tricin	OH	OH	OH
		Chrysoeriol	O-CH <sub>3</sub>	OH	H
Flavan-3-ols		Epicatechin	OH	OH	H
		Epicatechin gallate	OH	OH	H
		Epigallocatechin	OH	OH	OH
		Epigallocatechin gallate	OH	OH	OH
Anthocyanins/anthocyanidins		Cyanidin	OH	OH	H
		Dolphinidin	OH	OH	OH
		Ponidin	O-CH <sub>3</sub>	OH	H
		Pelargonidin	H	OH	H
		Malvidin	O-CH <sub>3</sub>	OH	O-CH <sub>3</sub>
		Petunidin	O-CH <sub>3</sub>	OH	OH

Adaptado de Kay, et. al, (2012)

## FLAVONÓIDES CÍTRICOS

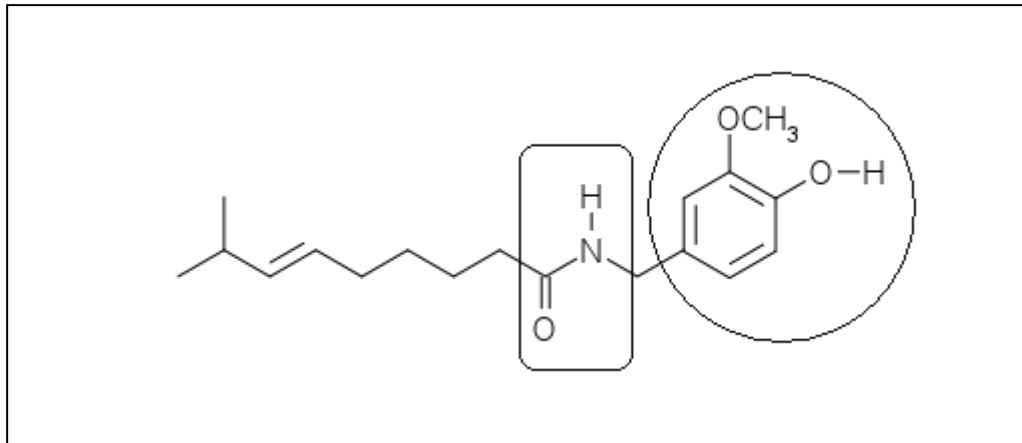
### ERIODICTIOL

O organismo humano possui um tipo específico de receptor denominado receptor de potencial transiente vanilóide 1 (TRPV1), um canal iônico permeável a cátions e que é ativado por estímulos nocivos, como calor, acidez e agentes irritantes como a capsaicina. A função do receptor é detectar e transmitir aos setores responsáveis do organismo dores crônicas e agudas. Nesse sentido, o autor pesquisou a atividade do flavonoide eriodictiol na modulação desse receptor, que possivelmente seria uma alternativa para o tratamento da dor. (Rossato, 2010).

Em sua dissertação, Rossato (2010) discute que já houve tentativas de testes clínicos em humanos que usaram antagonista de receptor TRPV1, de modo a estudar a capacidade do antagonismo ao receptor com a possível ausência ou diminuição da dor, mas que tiveram de ser suspensos devido a graves efeitos colaterais desenvolvidos pelos voluntários, como hipertermia duradora.

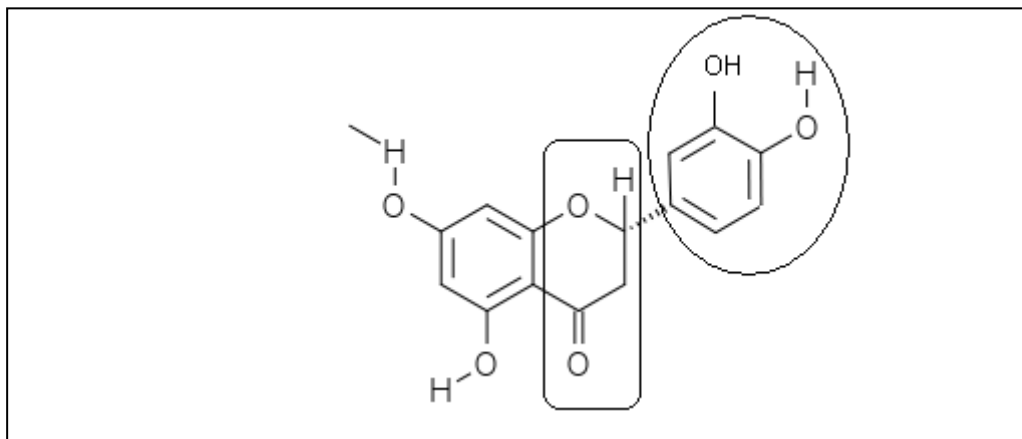
Assim, o eriodictiol aparece com características estruturais semelhantes aos ligantes geralmente encontrados no receptor TRPV1. Na figura abaixo, a estrutura (A) representa a forma molecular da capsaicina, um ligante do receptor TRPV1 e (B) o eriodictiol, molécula que possui propriedades biológicas similares de acordo com as regiões mostradas em retângulo e círculo. Dessa forma, podemos supor que o eriodictiol possa ter uma ação antinociceptiva ao se ligar a esse tipo de receptor.

**Figura 2- Estrutura molecular da capsaicina**



Adaptado de Rossato, (2010)

**Figura 3 – Estrutura molecular do eriodictiol**



Adaptado de Rossato, (2010)

Na tentativa de explorar a medicina popular, busca-se em produtos naturais compostos quimicamente purificados que possam desencadear tais efeitos descritos pela medicina popular. Achados esses compostos, eles podem ser utilizados como medicamentos ou como moléculas precursoras de novos fármacos. O eriodictiol está presente em diferentes plantas utilizadas pela medicina popular, além de ser encontrada em frutas cítricas, como o limão, e diferentes estudos de metabolização e excreção já foram realizados em humanos e roedores. (Rossato, 2010).

Ainda segundo Rossato, (2010) o composto pode ser encontrado em sua forma livre ou como quatro isômeros diferentes C-glicosilados. Ao ser absorvido pelo intestino, pode ser convertido em sua forma aglicona e metabolizado por metilação, originando os flavonóides hesperitina e homoeriodictiol, ou por conjugação ao ácido glicurônico, e, além disso, pode ser degradado pela flora intestinal no ácido 3,4-dihidroxi cinâmico. Diversos artigos já estudaram e descreveram a atividade antioxidante do eriodictiol, mostrando a sua capacidade de neutralizar desde espécies reativas de oxigênio, a enzima xantina oxidase e promover a ativação do fator de transcrição Nrf2, responsável por promover a transcrição de proteínas responsáveis pela defesa antioxidante do organismo, como as enzimas do sistema glutatona. Além desses efeitos, outros também já foram descritos, como atividade vaso-relaxante, apesar de seu mecanismo não ser completamente compreendido.

Em suma, seus estudos puderam demonstrar que o eriodictiol e a capsaicina possuem regiões bioisostéricas que conferem afinidade ao sítio vanilóide do receptor TRPV1, sendo capaz de exercer alguma modulação sobre a detecção e transmissão de estímulos nocivos.

Concluindo, seus resultados mostram que o eriodictiol age como um antagonista do receptor TRPV1, com atividade antioxidante, induzindo antinocicepção sem os efeitos colaterais e limitações esperados para antagonistas do receptor TRPV1, como hipertermia duradoura.

Além desse estudo de antinocicepção, há muitos outros estudos científicos relacionados ao eriodictiol e seus benefícios, como a capacidade do composto em aumentar a captação de glicose pelos tecidos e a diminuição da resistência à insulina *in vitro*. (Zhang, et. al, 2012).

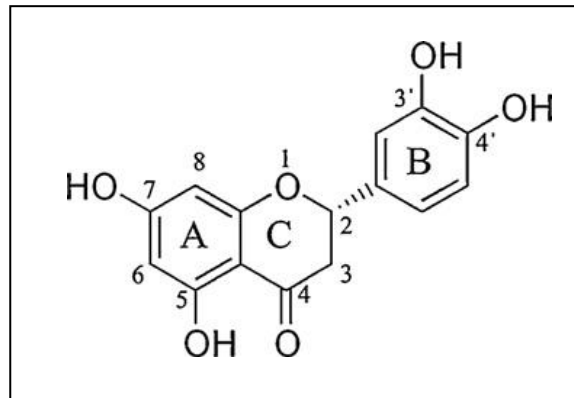


De acordo com Zhang, et. al, (2012), o eriodictiol é um flavonoide com atividades anti-inflamatórias e antioxidantes. O processo inflamatório e o stress oxidativo têm papel fundamental na patologia do diabetes mellitus, e seus estudos tentaram demonstrar se o eriodictiol possuía potencial terapêutico para o diabetes tipo 2. Seus resultados mostraram que o eriodictiol aumentou a captação de glicose insulino-dependente em hepatócitos humanos e provocou a diferenciação de adipócitos 3T3-L1 sob condições de alta concentração de glicose, mecanismos dos quais o próprio organismo humano realiza quando há altas taxas de glicose circulando no sangue.

Outro estudo que vem tentar demonstrar o efeito do eriodictiol nas consequências inevitáveis do diabetes mellitus é o de Bucolo, et. al, (2012). Os autores indagam que a medicina preventiva e o tratamento da retinopatia causada pelo diabetes são baseados basicamente pelo controle glicêmico e da pressão arterial, mas não existe nenhum composto farmacologicamente ativo especificamente para essa doença. Os flavonoides agem como antioxidantes finalizadores de cadeias de radicais livres e como quelantes de íons metálicos capazes de catalizar a peroxidação lipídica. A resposta para isso é a capacidade de doação de elétron da molécula do flavonoide, agindo assim como sequestrantes de radicais livres extremamente reativos e danosos ao organismo. Essa funcionalidade é devida a presença do anel B que contém o grupo catecol. Outra importante explicação molecular para as propriedades antioxidantes dos flavonoides em geral é a presença de insaturação 2,3 conjugada com o grupamento 4-oxo no anel C. Além disso, a presença de grupos funcionais que envolvem ambos os grupos hidroxila do anel B e o grupo 5-hidroxi do anel A são importantes contribuintes na capacidade de flavonoides para quelar metais reativos. A explicação de o eriodictiol inibir eventos

mediados por radicais livres é governada por sua estrutura química, representada abaixo.

**Figura 4 – Estrutura do eriodictiol**



Adaptado de Bucolo, Claudio et. al, (2012)

Vários grupos hidroxila conferem a molécula atividade antioxidante substancial, e capacidade quelante. A capacidade de ressonância de elétrons da molécula confere a sua capacidade de ser estável ao captar ou doar elétrons em reações com radicais livres.

Sua propriedade antirradical é direcionada para o íon  $\text{OH}^\cdot$  e superóxido, espécies altamente reativas envolvidas na iniciação da peroxidação lipídica. Os radicais hidroxilas (OH) substituídos em carbonos específicos no esqueleto dos flavonoides podem afetar significativamente suas propriedades antioxidantes e anti-apoptóticas. Em seus estudos, demonstraram que a suplementação de flavonoides provenientes do limão reduziu significativamente o stress oxidativo no soro, fígado e rins de ratos diabéticos, além de afirmarem que o eriodictiol protegia células da retina de danos oxidativos.

Outra função biológica do eriodictiol discutida por Bucolo, et. al, 2012 foi a redução da apoptose, ou morte celular programada, de queratinócitos humanos provocados por radiação UV. Além disso, os flavonoides com mais grupos OH

apresentam uma atividade antioxidante mais potente e efeitos anti-inflamatórios melhores. O eriodictiol contém inúmeras ligações duplas e os grupos hidroxila que podem doar elétrons através de ressonância para estabilizar os radicais livres. No entanto, eles parecem suspeitar que a atividade antioxidante dos flavonoides não esteja correlacionada com a presença de ligação insaturada entre o C2 e C3 ou com o grupo OH em C3 no anel C, mas sim na capacidade de inibição de espécies reativas de oxigênio (ROS), que interagem com a membrana das células causando severos danos. Comparativamente, eles mostraram que o eriodictiol, em comparação com luteolina, quercetina, e taxifolina, é o antioxidante mais eficiente em proteger as células contra o estresse oxidativo da retina. As propriedades de eliminação de radicais está associada com a estrutura do eriodictiol que atua contra o estresse oxidativo e ao fazê-lo previne danos ao tecido da retina. Estudos em humanos mostram que a ingestão dietética e a suplementação com antioxidantes estão associados à redução do risco de degeneração da retina.

Concluem, portanto, que há um interesse considerável na compreensão do potencial papel e os benefícios dos flavonoides na saúde ocular, tanto na doença já instalada como na prevenção. (Bucolo, et. al, 2012).

Segundo Miyake, et. al, (1997), citado por Minato, et. al, (2003), a eriocitrina é um glicosídeo do eriodictiol (eriodictiol 7-O-rutinoze), encontrada no limão e com potente atividade antioxidante.

O efeito da eriocitrina na redução de lipídeos em ratos com dieta rica em gordura e colesterol foi estudado por Miyake, et. al. (2006). Os resultados mostraram a redução do colesterol total, VLDL + LDL, triacilgliceróis e fosfolipídios no soro desses animais.

Minato, et. al, (2003) realizou experimentos para elucidar o efeito da eriocitrina na redução do dano oxidativo causado por exercícios agudos em ratos através da análise de seus fígados pós-morte. A identificação de marcadores de stress oxidativo como HEL, DT e NT foi determinada pelo método ELISA e a concentração de TBARS também foram estabelecidas, uma vez que são indicadores indiretos de peroxidação lipídica. Esses marcadores foram aumentados significativamente no grupo de ratos que foi submetido a exercícios, comparativamente com o grupo que não foi. Já o terceiro grupo, que além de se exercitar consumiram eriocitrina, tiveram os níveis desses marcadores drasticamente reduzidos. O mesmo se aplicou aos níveis de TBARS, mais alto no grupo que se submeteu a exercícios sem o consumo de eriocitrina em relação ao grupo que não praticou nenhum exercício, porém o terceiro grupo apresentou teores mais baixos dessas substâncias. Da mesma forma, o conteúdo de glutathiona oxidada foi menor no grupo que se exercitou e consome eriocitrina, em relação ao que não consome. Isso demonstrou o poder antioxidante dessa substância em neutralizar a formação de espécies reativas de oxigênio, que causam danos ao fígado.

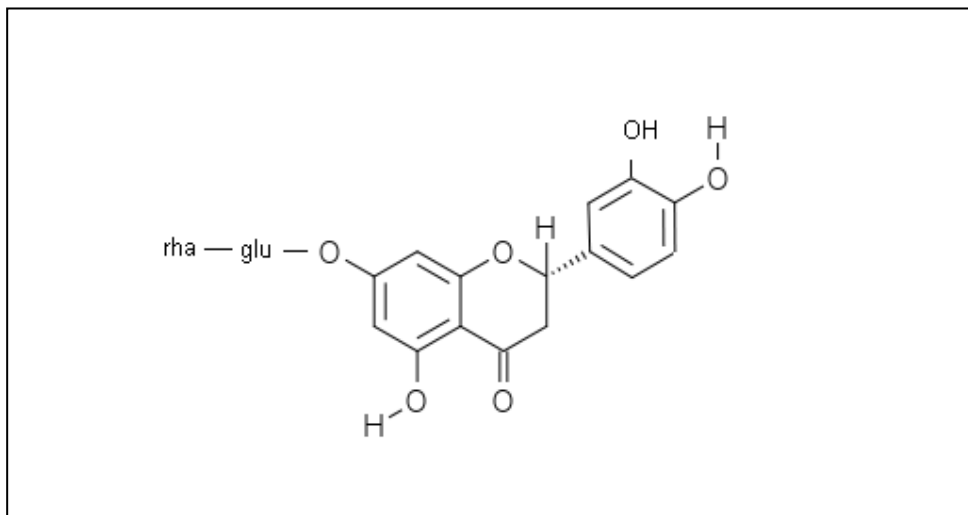
Jung, et. al. 2012 descreveu o efeito inibitório do eriodictiol na hipersensibilidade do tipo I induzida por antígeno e imunoglobulina E. A visualização do efeito se deu observando a expressão de ceramida quinase (CERK), envolvida na degranulação de mastócitos dependente de cálcio, e da sua ativação por diversas citocinas. O eriodictiol suprimiu a liberação de beta-hexosaminidase, um marcador de degranulação, e a expressão de mRNA (IL-4) – responsável por estimular a produção de IgE por linfócitos B -, reduziu a concentração de ceramida em mastócitos induzidos por antígeno e suprimiu a anafilaxia cutânea passiva (PCA) em ratos de maneira dose-dependente.

## HESPERIDINA

O composto hesperidina é um subproduto abundante e barato do cultivo de citros e é o principal flavonoide encontrado em laranja e também em pequena quantidade no limão. É um glicosídeo da sua forma aglicona hesperitina. A hesperitina acoplada com o dissacarídeo rutinose é o composto hesperidina em si. O dissacarídeo é composto por uma molécula de *rhamnose* e uma molécula de glicose e pode assumir uma de duas formas isoméricas, rutinose e neohesperidose. (Garg, et. al, 2001).

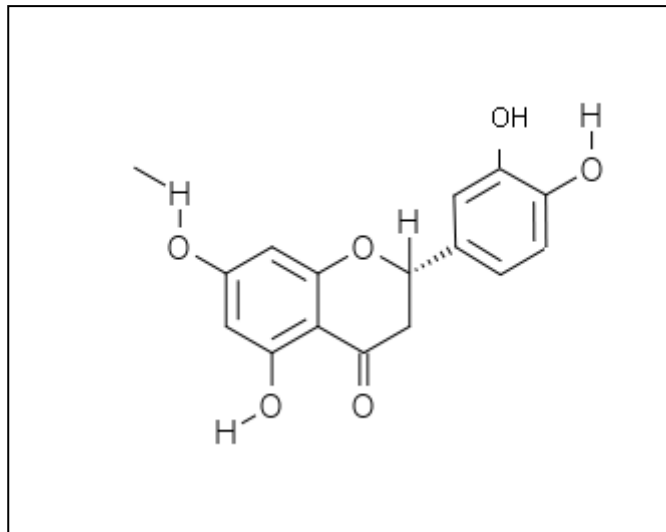
Abaixo estão representadas as estruturas moleculares da hesperidina e hesperitina, sendo a primeira forma ligada a um dissacarídeo e a segunda forma aglicona. (Garg, et. al, 2001).

**Figura 5 – Estrutura molecular da hesperidina**



Hesperidina (hesperitina-7ramnoglicosídeo). Adaptado de Garg. Et. al, (2001)

**Figura 6 – Estrutura molecular da hesperidina**



Adaptado de Garg, et al, (2001).

A hesperidina é comumente utilizada na medicina tradicional como um produto combinado. A mais conhecida associação de hesperidina é o Daflon – 500 mg<sup>®</sup>, que contém 50 mg de hesperidina e 450 mg de *diosmin*, que é outro flavonoide, diferindo da hesperidina apenas pela insaturação entre o C2 e C3, sendo dessa forma uma flavona, enquanto a primeira é uma flavonona, que não possui essa insaturação. (Guillot, et. al, 1989).

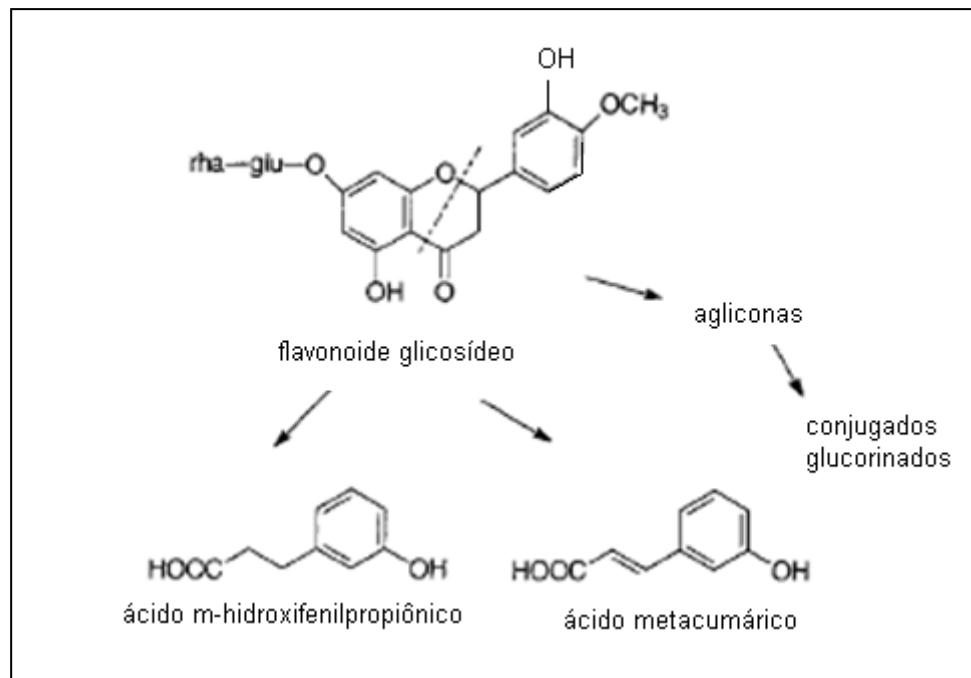
Guillot, et. al, (1989), citado por Garg, et. al, (2001) comenta o tratamento com Daflon – 500 mg<sup>®</sup> que tem demonstrado uma grande variedade de atividades farmacológicas incluindo efeitos benéficos em humanos com insuficiência venosa crônica. Duzentas e cinquenta mulheres administraram dois *tablets* da droga por dia durante um ano. Os resultados obtidos demonstraram a eficácia da droga no alívio dos sintomas como cólicas noturnas e edemas. O nível plasmático das substâncias foi controlado durante toda a duração do experimento.

No que se refere à toxicidade da substância, Pizzorno (1999); Murray, (1999) citados por Garg, A., et. al, (2001) afirmam que os bioflavonóides cítricos incluindo a

hesperidina, parecem ser extremamente seguros e sem efeitos colaterais mesmo durante a gravidez. No entanto, houve alguns relatos de interação entre a hesperitina (aglicona) e a hesperidina com algumas drogas convencionais. Uma importante interação é a facilitação da passagem do medicamento vincristina pela barreira hematoencefálica, utilizada na terapia de alguns tipos de câncer. Devido a isso não é aconselhável o uso concomitante dessas duas substâncias, podendo levar a danos cerebrais mais pronunciados.

Na tentativa de elucidar a absorção da hesperidina, Booth (1958) citado por Garg, et. al, (2001), homens brancos e saudáveis de 25 anos foram voluntários a tomar 500 mg da droga e a mesma quantidade de suco de laranja e *grapefruit*. Houve absorção pelo trato gastrintestinal após administração oral de ambas as formas, porém a quantidade detectada na urina dos mesmos foi de menos de 25%, indicando baixa biodisponibilidade. A hesperitina (aglicona) pôde ser detectada tanto no plasma quanto na urina. Diante disso percebeu-se que flavononas cítricas passam por um processo de glucorinização antes de serem excretadas através da urina. O metabolismo foi estudado em ratos, sendo o maior metabólito encontrado o ácido m-hidroxifenilpropionico e pequena quantidade de ácido metacumárico e a forma aglicona. Basicamente, o esquema do metabolismo em ratos é demonstrado abaixo.

**Figura 7 – Metabolismo de um flavonoide**



Adaptado de Garg, et. al, (2001).

A suplementação dietética com hesperidina tem sido utilizada em pacientes que sofrem de desordens do sistema cardiovascular como fragilidade e aumento da permeabilidade dos vasos, que resultam em hematomas e varizes. (Garg, et. al, 2001).

A alta permeabilidade dos vasos capilares é uma característica de várias patologias e se manifestam como edema, sangramento e hipertensão arterial. Doenças comumente ligadas à um aumento da permeabilidade dos vasos inclui diabetes, insuficiência venosa crônica, hemorroidas, escorbuto, vários tipos de úlceras e hematomas. Bisset, et. al, (1991) citado por Garg, et. al, (2001) afirmam que pesquisas com flavonoides derivados de extratos de plantas demonstraram um efeito de redução da permeabilidade dos vasos e da fragilidade de suas paredes. Morri, (1939) citado por Garg, et. al, (2001) descobriu que a administração de 30 mg de hesperidina diminuiu a permeabilidade de capilares e aumentou a resistência



capilar em várias situações clínicas como pleurisia, tuberculose, Doença de Grave e beribéri. Desde então, o composto é utilizado como um agente terapêutico para aumentar a resistência dos vasos capilares.

Garg, et. al, (2001) em seus estudos, puderam constatar que a hesperidina também possui efeitos anti-inflamatórios e analgésicos. Seu uso é indicado como agente anti-inflamatório especialmente em pessoas com hipersensibilidade aos AINEs convencionais, além de ser um composto de baixo apelo econômico.

Os compostos hesperidina e hesperitina, entre outros flavonoides, demonstram ainda potencial anti-infeccioso e anti-replicativo *in vitro* contra alguns microorganismos de plantas e animais. Um estudo envolvendo uma investigação anti *Helicobacter pilori*, *in vitro*, de alguns flavonoides e seus metabólitos, hesperitina e outros flavonoides demonstraram inibição do crescimento de *H. pilori*, que em pacientes com gastrite crônica, promove alteração da gastrite para câncer gástrico. (Bae, et. al, (1999) citado por GARG, et. al, (2001)).

A atividade anti-fúngica da hesperidina foi reportada em estudo de 1988 a partir de doses variando entre 1 e 10  $\mu\text{g}$  contra *Botrytis cinerea*, *Trichoderma glaucum* e *Aspergillus fumigatus*. Porém, um estudo de 1997 constrata os resultados ao demonstrar que a substancia mostrou-se inativa contra *Aspergillus Níger* e *Trichoderma spp*, o que torna duvidosa a sua ação anti-fúngica. (Krolicki, e Lamerzawska, ( 1984); Islam e Ahsan, (1997) citado por GARG, et. al., 2001)

Outro estudo, pesquisado pelos autores Wacker e Eilmes reportaram a hesperidina sendo ativa como agente antiviral, *in vitro*, em diferentes concentrações em culturas de células, contra o vírus *vesicular stomatitis*. A enzima hialuronidase parece reverter a atividade antiviral, o que sugere que o mecanismo de ação da

hesperidina é mediada pela inibição dessa enzima. Outros vírus relatados por possuir inibição pela hesperidina incluem herpes tipo I, para-influenza 3, poliovírus tipo I. Em um estudo do ano 2000, os efeitos inibitórios de alguns flavonoides foram testados contra a infectividade do rotavírus, que é predominante o causador de diarreia em jovens e crianças, e a hesperidina demonstrou um potente efeito inibitório. A forma aglicona, no entanto, não possui essa atividade, indicando que o açúcar rutinose é essencial na proteção contra o rotavírus nas células. Em relação a leveduras, o composto demonstrou efeito inibitório em *Candida albicans* e *Saccharomyces cerevisiae* quando foi testada *in vitro* em placas de agar. (Garg, et. al, 2001).

A hialuronidase é uma enzima que despolimeriza o mucopolissacarídeo formado, entre outras substâncias, por ácido hialurônico. Essa enzima é extremamente importante na regulação da permeabilidade dos vasos capilares e no suporte aos tecidos. A sua atividade ao clivar o ácido hialurônico aumenta a permeabilidade dos tecidos. Além disso, várias bactérias possuem e utilizam essa enzima para favorecer a sua invasão em tecidos com os quais possuem afinidade. A hesperidina fosforilada e fosfatada provaram ser potentes inibidores dessa enzima. Foi demonstrado que a hesperidina e a sua forma aglicona hesperitina também possuem tal efeito, mas bem menos pronunciados que as suas formas derivadas citadas acima (Hahn, (1952) citado por Garg, et. al., (2001)).

Beiler, (1947) e Martin, (1948) citados por Garg, et. al, (2001) comentam o efeito anti-fertilidade da hesperidina, que segundo eles já vem sendo estudado durante vários anos. Em 1948, hesperidina fosforilada (PH) demonstrou ação efetiva como um agente anti-fertilidade devido ao fato de inibir a enzima hialuronidase presente no esperma. Em estudo com ratos machos e fêmeas, foi administrado o

composto e o número de fêmeas prenhas foi drasticamente reduzido em relação ao grupo controle. Exames microscópicos mostraram que o fluído seminal dos machos mostrou-se normal, assim como a contagem e motilidade dos espermatozoides. O ciclo reprodutivo das fêmeas também se mostrou inalterado.

Baseado nesse estudo, 300 casais casados passaram a tomar hesperidina fosforilada (100 mg) oralmente, durante 30 meses. Os resultados foram surpreendentes, pois em todos os carros ocorreu contracepção, exceto em dois, onde os casais não cooperaram com os parâmetros do estudo. Segundo os autores, 48 horas sem a administração da hesperidina a fertilidade é restabelecida. Isso permite prever como promessa de um anticoncepcional oral sem nenhum efeito tóxico ou permanente infertilidade. A enzima hialuronidase é uma enzima essencial para a penetração do espermatozoide na camada do folículo celular do óvulo. Ao inibir essa enzima, a PH impede a fecundação, podendo, assim, ser utilizada com sucesso como um agente antifertilidade. (Sieve, (1952) citado por Garg, et. al, 2001).

Garg, et. al, (2001) afirma que na década de 90 houve consideráveis estudos para estabelecer a possível atividade anticâncer da hesperidina e da hesperitina. A inibição da carcinogênese em ratos pela hesperidina, numa concentração de 500 ppm/kg de peso corporal foi demonstrado. O efeito parece ser devido a inibição de substâncias carcinogênicas e pela modulação de enzimas responsáveis pelo concerto do DNA mutagênico.

No que se refere à agregação plaquetária, a hesperidina aumentou o tempo de sobrevivência de ratos de 16 a 71 dias quando eles eram alimentados com uma dieta trombogênica, mas produziu resultados variáveis quando os ratos foram alimentados sob uma dieta aterogênica. Em estudo com humanos, a hesperidina

demonstrou inibição da agregação plaquetária induzida por epinefrina e ADP. Em estudos com cavalos, efetivamente observou-se a diminuição da agregação de eritrócitos. Essa explicação coincide com os efeitos benéficos da hesperidina em anormalidades dos capilares como a alta permeabilidade e fragilidade, a redução dos sintomas relacionados e sua proteção contra vários tipos de traumas e stress.

Saija, et. al, (1998) citado por Garg, et. al, (2001) trabalham com outro conceito de ação da hesperitina. Em seus estudos, comentam sobre a ação de fotoproteção UV, onde foi aplicado um gel de uso tópico na pele de voluntários humanos e os expõem a radiação UV-B e monitorando a extensão do eritema através de *reflectance spectrometria*, foi possível demonstrar que a hesperidina pode ser utilizada com sucesso como fotoprotetor tópico. Essa ação é devida a capacidade do composto em sequestrar radicais livres, protegendo a pele de danos e retardando o seu envelhecimento. Apesar da referência desse estudo, Garg, A. et. al, (2001) afirmam que a hesperitina parece não ser particularmente um potente antioxidante em comparação com outros flavonoides.

Por fim, o composto também apresenta propriedades analgésicas e antipiréticas confirmadas com experimentos em ratos, provavelmente inibindo a produção de prostaglandinas e a sua liberação, assim como de histamina, o que também acarreta proteção gástrica e prevenção de lesões na mucosa gástrica. (Garg, et. al, 2001)

Chopra, et. al, (2005) relatam em seu trabalho os efeitos da hesperidina na diminuição do stress oxidativo causado por tetracloreto de carbono (CCl<sub>4</sub>) em fígado e rins de ratos. Segundo os autores, a exposição a drogas, radiações ionizantes e substâncias pró-oxidantes provenientes do meio ambiente induzem a produção de

radicais livres. A peroxidação lipídica iniciada pelos radicais livres é considerada extremamente deletéria para a membrana das células e uma infinidade de situações patológicas. O tetracloreto de carbono é um solvente industrial, com identificada ação hepatotóxica. Vários estudos demonstraram que o fígado não é o único órgão que é afetado pelo solvente, mas a geração de radicais livres em outros tecidos também foram descritos, incluindo rins, coração, pulmão, testículos, cérebro e sangue. De uma forma geral, solventes hidrocarbonados produzem doenças renais agudas e crônicas, e tetracloreto de carbono está incluído entre eles. Grandes evidências demonstram que na ativação metabólica do  $\text{CCl}_4$ ,  $\cdot\text{CCl}_4$  e  $\text{Cl}^-$  são formados, os quais iniciam a peroxidação lipídica. A vitamina E protege os danos causados pelo tetracloreto de carbono e seus metabólitos no fígado, e esse importante papel serviu de base para os seus estudos. Em seus apoios bibliográficos, constatam que extratos que contêm antioxidantes protegem contra o  $\text{CCl}_4$ , que causa aumento da oxidação lipídica e a diminuição da enzima GSH hepática.

Para demonstrar o possível efeito de hesperidina, animais foram tratados com hesperidina (100 e 200 mg/kg) via oral por uma semana, depois trocou-se hesperidina por  $\text{CCl}_4$  (2 ml/kg/s.c) em azeite de oliva. Os ratos foram sacrificados por sangria da artéria carótida sob anestesia. Os resultados demonstraram que ambas as doses de hesperidina diminuíram significativamente os níveis das enzimas ALT e AST, comparativamente com o grupo controle, que são marcadores de dano hepático. Para mensurarem o stress oxidativo no fígado e nos rins utilizaram TBARS (substâncias reativas ao ácido barbitúrico), o conteúdo de glutathione, superóxido dismutase e catalase. Em suma, os níveis de TBARS foram significativamente aumentados ao passo que GSH, SOD e CAT tiveram seus níveis diminuídos no

homogenato de fígado e rim. Eles concluem que seus estudos puderam demonstrar um efeito protetor da hesperidina no stress oxidativo induzido por  $\text{CCl}_4$  no fígado e rins dos ratos. Esse efeito da hesperidina pode estar relacionado diretamente com o seu efeito antioxidante. No entanto, nenhum mecanismo específico de ação foi elucidado, apenas sugerido devido a outros estudos que comprovaram a sua atividade antioxidante. (Chopra, Kanwaljit et. al., 2005).

## CONCLUSÃO

O presente Trabalho de Conclusão de Curso demonstrou alguns aspectos da atividade biológica dos compostos eriodictiol e hesperidina quando administrados em modelos animais e em seres humanos.

O eriodictiol mostrou-se efetivamente um composto antinociceptivo, hipoglicemiante – ao diminuir a resistência à insulina (in vitro) - anti-inflamatório e antioxidante, redutor de danos causados por radiação UV e stress oxidativo.

A hesperidina demonstrou sua eficácia na insuficiência venosa crônica ao ser utilizada como o medicamento Daflon 500 mg ®, indicado principalmente para anormalidades circulatórias que envolvem o aumento da permeabilidade dos vasos. Possui ainda atividade anti-inflamatória e analgésica, antifertilidade, antibacteriana, antiviral, antifúngica e anticarcinogênica, além de inibir a agregação plaquetária e fotoproteção UV.

São opções terapêuticas para diversas patologias devido à baixa ou nenhuma toxicidade e fácil acesso para o seu consumo, já que podemos extraí-las de frutas cítricas tão comumente consumidas, como a laranja e o limão.

As reconhecidas ações do eriodictiol e hesperidina só levam a mais indagações de possíveis flavonoides ou compostos derivados dos alimentos que possam trazer benefícios à saúde humana.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAE, E. A. et. al. *In vitro* anti-Helicobacter activity of some flavonoids and their metabolites. **Planta Med**, v. 65, p. 442-443, 1999.
2. BEILER, J. M.; MARTIN, G. J. Inhibition of hialuronidase action by derivates of hesperidin. **J Biol Chem**, v. 174, p. 31-35, 1948.
3. BEILER, J. M.; MARTIN, G. J. Inhibitory action of vitamin-P compounds on hialuronidase. **J Biol Chem**, v. 171, p. 507-511, 1947.
4. BENAVENTE-GARCÍA, O; CASTILLO, J. Update on Uses and Properties of *Citrus* Flavonoids: New Findings in Anticancer, Cardiovascular, and Anti-inflammatory Activity. **J. Agric. Food Chem**, v. 56, p. 6185-6205, 2008.
5. BISSET, N. G. et. al. In ***The medicinal plant industry. Medicinal Plant Industry***. CRC Press: Boca Raton, FL, 1991.
6. BOOTH, A. N. et. al. Metabolic fate of hesperidin, eriodictiol, homoeriodictiol and diosmin. **J Biol Chem**, v. 230, p. 661-668, 1958.
7. BUCOLO, Claudio et. al. Eriodictyol prevents early retinal and plasma abnormalities in streptozotocin-induced diabetic rats. **Biochemical Pharmacology**, v. 84, p. 88-92, 2012.
8. CAMPÊLO, Lidianne M. L. et. al. Antioxidant and Antinociceptive Effects of *Citrus limon* Essential Oil in Mice. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. Article ID 678673, 8 páginas, 2011.
9. CHOPRA, Kanwaljit et. al. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. **BMC Pharmacology**, v. 5, n. 2, 2005.



10. ERLUND, Iris. Review of the flavonoids quercetin, hesperitin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology. **Nutrition Research**, v. 24, p. 851-874, 2004.
11. GARG, A. et. al. Chemistry and Pharmacology of The Citrus Bioflavonoid Hesperidin. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 655-669, 2001.
12. GRASSI, Davide et. al. Flavonoids, Vascular Function and Cardiovascular Protection. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, p. 1072-1084, 2009.
13. GUILLOT, B. et. al. A long term treatment with venotropic drug: Results on efficacy and safety of Daflon-500 mg in chronic venous insufficiency. **Int Angiol**, v. 8, p. 67-71, 1989.
14. HAHN, L. Inhibitors of hialuronidase. **Nature**, v. 170, p. 282-283, 1952.
15. ISLAM, S. K. N.; AHSAN, M. Biological activities of the secondary metabolites isolated from *Zieria smithi* and *Zanthoxylum elephantiasis* on micro-organisms and brine shrimps. **Phytother Res**, v. 11, p. 64-66, 1997.
16. JUNG, Min Yoo. Inhibitory Effect of Eriodictyol on IgE/Ag-Induced Type I Hypersensitivity. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 76, n. 7, p. 1285-1290, 2012.
17. KAY, Colin D. et. al. Relative impact of flavonoid composition, dose and structure on vascular function: A systematic review of randomized controlled trials of flavonoid-rich food products. **Mol. Nutr. Food Res.**, v. 56, p. 1605-1616, 2012.
18. KROLICKI, Z.; LAMER-ZARAWSKA, E. 1984. Investigation of anti-fungal effect of flavonoids. Part 1. **Herb Pol**, v. 30, p. 53-57, 1984.

19. MINATO, Ken-ichiro et. al. Lemon flavonoid, eriocitrina, suppresses exercise-induced oxidative damage in rat liver. **Life Sciences**, v. 72, p. 1609-1616, 2003.
20. MIYAKE, Y. et. al. Isolation of eriocitrina (eriodictyol 7-rutinoside) from lemon fruit (*Citrus limon* BURM. f.) and its antioxidative activity. **Food Sci Technol Int**, v. 3, p. 84-89, 1997.
21. MIYAKE, Y. et. al. Lipid-Lowering Effect of Eriocitrin, the Main Flavonoid in Lemon Fruit, in Rats on a High-Fat and High-Cholesterol Diet. **Journal of food Science**, v.71, n. 9, 2006.
22. MORRI, S. Research for vitamin-P. **J. Biochem**, v. 29, p. 487-501, 1939.
23. MOURA, Lílian Maria. **Compostos bioativos em frutas cítricas: quantificação, avaliação da atividade antioxidante, parâmetros de cor e efeito da pasteurização**. Araraquara, 2010. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição). Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista.
24. MULVIHILL, E.E.; HUFF, M.W. Citrus flavonoids and the prevention of atherosclerosis. **Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets**, v. 12, n. 2, p. 84-91, 2012.
25. NIE, Y. C. et. al. Anti-inflammatory effects of naringin in chronic pulmonary neutrophilic inflammation in cigarette smoke-exposed rats. **J Med Food**, v. 15, n. 10, p. 894-900, 2012.
26. OLIVEIRA, Tânia T. et. al. Flavonóides e Aterosclerose. **RBAC**, v. 42, n. 1, p. 49-54, 2010.
27. PARK, H. J. et. al. Citrus unshiu peel extract ameliorates hyperglycemia and hepatic steatosis by altering inflammation and hepatic glucose- and lipid-

- regulating enzymes in db/db mice. **J Nutr Biochem**, v. 24, n. 2, p. 419-427, 2013.
28. PIZZORNO JR, J. E.; MURRAY, M. T. In **Textbook of natural medicine**, ed. Churchill Livingstone: Edinburgh, **79**, 1999
29. PRASAIN, J. K. et. al. Flavonoids and age-related disease: Risk, benefits and critical windows. **Maturitas**, v. 66, p. 163-171, 2010.
30. ROSSATO, Mateus Fortes. **Eriodictiol: Um flavonóide antagonista do receptor TRPV1 com atividade antioxidante**. Santa Maria, 2010. Dissertação de Mestrado em Ciências Biológicas. Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria.
31. SAIJA, A. et. al. Influence of different penetration enhancers on *in vitro* skin permeation and *in vivo* photoprotective effects of flavonoids. **Int J Pharm**, v. 175, p. 85-94, 1998.
32. SIEVE, B. J. A new antifertility factor. **Science**, v. 116, p. 373-385, 1952.
33. TRIPOLI, Elisa et. al. *Citrus* flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. **Food Chemistry**, v. 104, p. 466-479, 2007.
34. ZHANG, Wei-Yun et. al. Effect of Eriodictyol on Glucose Uptake and Insulin Resistance in Vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 7652-7658, 2012.

Araraquara, janeiro de 2013.

**CIENTES**

---

Profa. Dra. Thaís Borges César

---

Mauro Thomé Dourado Cerdan