AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO FLAVONÓIDE HESPERITINA E DERIVADOS SINTÉTICOS

Mateus Flórido Cubo (PROVIC), Taynara Pacheco Valério (IC), Ana Carolina Mendes Hacke (PG), Jacqueline Aparecida Marques (PQ), José Carlos Rebuglio Vellosa (PQ), Romaiana Picada Pereira (Orientadora), e-mail: romaiana@yahoo.com.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química

Ciências Biológicas, Bioquímica

Palavras-chave: Produtos Naturais, antioxidantes, hesperitina.

Resumo

O flavonóide hesperidina e sua forma aglicona hesperitina apresentam propriedades anticarcinogênicas e atividade antioxidante. O objetivo desse trabalho foi avaliar o mecanismo envolvido na atividade antioxidante da hesperitina e sua possível toxicidade. Para avaliar o mecanismo antioxidante, utilizou-se o ensaio com o radical DPPH• e a avaliação do poder redutor. Em ambos os testes, o ácido ascórbico foi utilizado como padrão. Para análise da possível toxicidade do composto, utilizou-se *Artêmia salina,* onde o dicromato de potássio foi utilizado como controle positivo. A hesperitina inibiu o radical DPPH• com CI_{50} de 62,80 ± 3,45 µg mL^{-1} e apresentou atividade antioxidante também no ensaio do poder redutor. Além disso, este composto não apresentou toxicidade no ensaio com *Artêmia salina*, com um valor de DL_{50} de 1799,2 ± 190,0µg mL^{-1}. A partir do presente estudo, investigações *in vivo* relacionadas à ação antioxidante da hesperitina serão desenvolvidas.

Introdução

Muitos produtos naturais presentes na composição de alimentos estão associados à prevenção de doenças neurodegenerativas, câncer e doenças cardiovasculares (BASTOS et al; 2009). Os compostos fenólicos, por exemplo, são substâncias provenientes do metabolismo secundário das plantas, sendo responsáveis por diversas características e funções como: cor, sabor, aroma e atuam na defesa contra predadores e patógenos (ALASALVAR et al., 2001). Os flavonóides são muito estudados devido aos seus benefícios à saúde, sendo encontrados na sua forma aglicona ou com carboidratos conjugados. A hesperidina é um flavonóide presente principalmente em frutas cítricas. Seu carboidrato ligado a estrutura é a rutinose que é um dissacarídio composto por glicose e ramnose. Além disso, sua forma aglicona é a hesperitina. Ambos os compostos apresentam propriedades anticarcinogênicas, neuroprotetoras, anti-inflamatórias e atividade antioxidante (ROOHBAKHSH et al; 2014, SOUZA et al; 2016). O medicamento Daflon 500 mg apresenta 450mg de diosmina e 50mg de hesperidina (STRUCKMANN et al., 1994), sendo utilizado para tratamento de insuficiência venosa crônica, apresenta DL_{50} superior a 3g/kg (MEYER, 1994). Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o

mecanismo envolvido no potencial antioxidante da hesperitina e sua possível toxicidade em *Artemia salina*.

Materiais e Métodos

Teste do DPPH•
Foi avaliada a capacidade do composto hesperitina em sequestrar o radical DPPH• (BRAND-WILLIAMS et al; 1995), originalmente de cor púrpura que passa a cor amarelada ao ser reduzido por um agente antioxidante presente. Com os resultados da porcentagem de inibição, calculou-se o valor de CI_{50}, que é o valor necessário para a inibição de 50% do DPPH•.

Cinética da reação com o DPPH•
Para o teste de cinética foi realizada a leitura espectrofotométrica, no comprimento de onda de 518 nm, em intervalos de 5 minutos durante 1 hora.

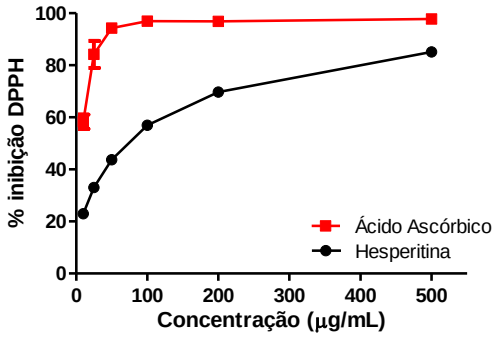
Ensaio do Poder redutor
O poder redutor do composto foi avaliado de acordo com o método proposto por OYAIZU (1986).

Teste de toxicidade em Artemia salina
Foi avaliada a toxicidade do composto hesperitina frente a *Artemia salina* em diferentes concentrações (MEYER et al; 1982), sendo calculada a DL_{50} após a contagem das artêmias mortas após 24 horas de incubação.

Análise Estatística
Todos os testes foram feitos em triplicata. Para a análise dos dados e obtenção dos gráficos utilizou-se o programa *GraphPad Prism* 5.0. Os resultados das análises foram tratados estatisticamente por ANOVA e as médias dos grupos foram comparadas pelo teste Student-Newman-Keuls.

Resultados e Discussão

Teste do DPPH•
O composto hesperitina apresentou CI_{50} = 62,80 ± 3,45 µg mL^{-1}. Pode-se observar na figura 1 a atividade antioxidante frente ao radical DPPH• da hesperitina comparada ao padrão ácido ascórbico (CI_{50}= 3,42 ± 1,39 µg mL^{-1}).



Fonte: O autor.

Figura 1: Porcentagem de inibição do radical DPPH• em função das concentrações de hesperitina ou do padrão ácido ascórbico.

Cinética da reação com o DPPH•

As leituras feitas em intervalos de 5 minutos (Figura 2) demonstraram a diminuição da absorbância com o aumento da concentração do composto ao longo do tempo.

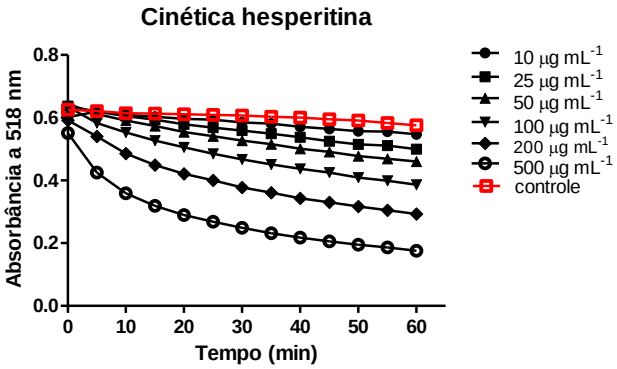


Figura 2: Absorbância a 518 nm em intervalos de 5 minutos durante 1 hora para diferentes concentrações de hesperitina.

Ensaio do Poder redutor

Verificou-se que a hesperitina apresentou potencial redutor, visto que houve aumento na absorbância com a concentração do composto (Figura 3).

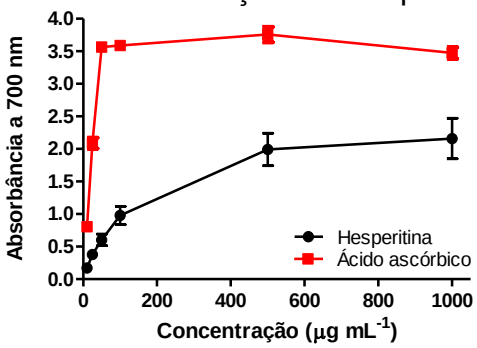


Figura 3: Absorbância a 700 nm em função das concentrações de hesperitina ou do padrão ácido ascórbico.

Teste de Toxicidade em Artemia Salina

A hesperitina apresentou DL_{50} = 1799,2 ± 190,0 µg mL^{-1}, não sendo considerada tóxica de acordo com Meyer e colaboradores (1982). A DL_{50} (Dose letal) é a dose necessária de um composto para causar morte em 50% dos seres vivos expostos a ele. O controle dicromato de potássio apresentou DL_{50} = 158,48 ± 89,53 µg mL^{-1}.

Conclusões

Os resultados desse estudo demonstram que a hesperitina apresenta atividade antioxidante frente ao radical DPPH· e ao teste do poder redutor, apresentando mecanismos antioxidantes de doação de elétrons e de hidrogênio para estabilizar outros compostos. Além disso, não apresentou toxicidade frente ao teste da *Artemia salina*. Assim, são necessários mais estudos para investigar possíveis novos mecanismos de ação antioxidante e seus efeitos *in vivo.*

Agradecimentos

Meus agradecimentos aos departamentos de química e análises clínicas da Universidade Estadual de Ponta Grossa, a minha orientadora Romaiana e co-orientadora Ana Carolina pela paciência e compartilhamento de conhecimentos durante o projeto.

Referências

ALASALVAR, C., GRIGOR, J. M., ZHANG, D., QUANTICK, P. C., & SHAHIDI, F. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n. 49, p. 1410–1416, 2001.

BASTOS, D. H., ROGERO, M. M., & ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53, n. 5, p. 646-656, 2009.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

MEYER, B. N., FERRIGNI, N. R., PUTNAM, J. E., JACOBSEN, L. B., NICHOLS, D. J., & MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.

MEYER, O. C. Safety and security of Daflon 500 mg in venous insufficiency and in hemorrhoidal disease. **Angiology**, v. 45, n. 6 , p. 579-584, 1994.

OYAIZU, M. Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. **The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics**, v. 44,p. 307-315, 1986.

ROOHBAKHSH, A., PARHIZ, H., SOLTANI, F., REZAEE, R., & IRANSHAHI, M. Neuropharmacological properties and pharmacokinetics of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin—a mini-review. **Life sciences**, v. 113, n. 1, p. 1-6, 2014.

SOUZA, V. T., FRANCO, É. P. D., ARAÚJO, M. E. M. B., MESSIAS, M. C. F., PRIVIERO, F. B. M., FRANKLAND SAWAYA, A. C., & OLIVEIRA CARVALHO, P. Characterization of the antioxidant activity of aglycone and glycosylated derivatives of hesperetin: an in vitro and in vivo study. **Journal of Molecular Recognition**, v. 29, n. 2, p. 80-87, 2016.

STRUCKMANN, J. R.; NICOLAIDES, A. N. Flavonoids A Review of the Pharmacology and Therapeutic Efficacy of Daflon 500 mg in Patients with Chronic Venous Insufficiency and Related Disorders. **Angiology**, v. 45, n. 6, p. 419-428, 1994.