

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

**Atividade vascular e anti-hipertensiva de  
uma fração polifenólica de *Inga edulis* Mart.**

**Maria Cecília Ferreira Mariano**

Belo Horizonte

2012

Maria Cecília Ferreira Mariano

# **Atividade vascular e anti-hipertensiva de uma fração polifenólica de *Inga edulis* Mart.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas - Fisiologia e Farmacologia - da Universidade Federal de Minas Gerais, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas

Área de Concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Steyner F. Côrtes

Belo Horizonte

Instituto de Ciências Biológicas da UFMG

2012

## RESUMO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é uma condição clínica multifatorial que apresenta alta prevalência e baixas taxas de controle. A terapia anti-hipertensiva efetiva reduz acentuadamente a morbidade e a mortalidade decorrentes de doenças cardiovasculares. O consumo de compostos polifenólicos reduz a probabilidade de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Os polifenóis são compostos vasodilatadores que podem atuar por diferentes mecanismos, inclusive pelo estímulo da produção de óxido nítrico (NO) por células endoteliais. Este efeito pode resultar na redução da resistência vascular periférica, com conseqüente redução da pressão arterial. O presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito anti-hipertensivo e investigar a atividade vasodilatadora de uma fração polifenólica obtida a partir das folhas da espécie *Inga edulis* (FPI) e de substâncias isoladas que fazem parte da constituição desta fração. Em aorta de rato pré-contraída com fenilefrina, a FPI provocou relaxamento vascular de maneira concentração-dependente e dependente da presença de endotélio funcional. Utilizando antagonistas de receptores e inibidores enzimáticos verificou-se a participação de receptores para estrógeno, subtipo ER $\alpha$ , e da ativação das vias Src/PI3k e NO/GMPc, por uma via dependente da formação de ânions superóxido. As substâncias catequina e miricetina, presentes em alta concentração na FPI, contribuem fortemente para o relaxamento vascular, apesar de não serem as únicas responsáveis por este efeito. Em experimentos *in vivo* observou-se um efeito anti-hipertensivo da FPI por via intraperitoneal e oral em animais hipertensos no modelo DOCA-Sal. Por meio da quantificação de nitrito (NO $_2^-$ ) sérico observou-se que a FPI é capaz de induzir um aumento na produção de NO, o qual possivelmente é o responsável pela redução da PA. Em conjunto esses resultados nos permitem concluir que a FPI apresenta atividade anti-hipertensiva dependente de sua atividade vasodilatadora, via aumento da produção de NO, da ativação de receptores ER $\alpha$  e da via Src/PI3k. Este estudo demonstra que fração padronizada rica em compostos polifenólicos obtida a partir da espécie *I. edulis* é um potencial candidato para utilização no tratamento de doenças cardiovasculares.

## ABSTRACT

Hypertension is a multifactorial clinical condition that has a high prevalence and low control rate. The effective antihypertensive therapy markedly reduces morbidity and mortality due to cardiovascular disease. The consumption of polyphenols reduce the risk rate of cardiovascular diseases, as demonstrated by epidemiological studies. Polyphenols are vasodilator compounds acting through several mechanisms of action, including the formation of nitric oxide (NO) by vascular endothelial cells. This effect may result on reduction of vascular resistance and decrease on blood pressure. The present work aimed to evaluate the antihypertensive and to investigate the vasodilator effects and mechanisms of a polyphenolic fraction obtained from the leaves of *Inga edulis* (IPF) and of the pure compounds present in this fraction. In rat aorta pre-contracted with phenylephrine, IPF induces vasodilatation in a concentration- dependent manner and dependent on the presence of a functional endothelium. Using enzyme inhibitors and antagonists of the receptors we found that the vasodilator mechanism of action is dependent of the Src/PI3k and NO/cGMP pathways. Furthermore, it was shown the participation of estrogen receptors, subtype ER $\alpha$ . Substances catechin and myricetin, present in high concentration in IPF, contributed to the vasodilator effect, although other polyphenolic compounds may also have a synergic effect. IPF, via intraperitoneal and oral routes, presented an antihypertensive effect in DOCA-Salt hypertensive rats. By using the serum nitrite measurement it was observed that IPF is capable of inducing an increase in the production of NO, which is probably the responsible for the reduction of blood pressure. Together these results allow us to concluded that IPF has an antihypertensive effect dependent on its vasodilator effect and on production of NO through a mechanism involving activation of ER and Src/PI3K pathways. Alltogether, the present work demonstrates that the standardized fraction rich in polyphenolic compounds obtained from the species *I. edulis* has a great potential for the treatment of cardiovascular diseases, particularly systemic arterial hypertension.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Taxas de mortalidade por DCV e suas diferentes causas no Brasil, em 2006	17
Figura 2.	Esquema de um corte transversal da parede arterial, enfatizando as camadas endotelial, média e adventícia	18
Figura 3.	Estrutura química básica de compostos fenólicos e polifenólicos	23
Figura 4.	Folhas e frutos de <i>Inga edulis</i>	26
Figura 5.	Estrutura química de compostos identificados em extrato metanol-água das folhas de <i>I. edulis</i>	26
Figura 6.	Representação de medidas de PAS realizadas em animal hipertenso	36
Figura 7.	Reações de Griess	37
Figura 8.	Protocolo experimental simplificado para a quantificação de nitrito sérico	38
Figura 9.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na presença (E+) e na ausência (E-) de endotélio funcional	41
Figura 10.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na ausência e na presença de L-NAME em anéis de aorta com endotélio funcional.	42
Figura 11.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na ausência e na presença de ODQ em anéis de aorta com endotélio funcional	43
Figura 12.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na ausência e na presença de atropina em anéis de aorta com endotélio funcional	44
Figura 13.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na ausência e na presença de ICI 182,780 em anéis de aorta com endotélio funcional	45

Figura 14.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na ausência e na presença de MPP e PHPTT em anéis de aorta com endotélio funcional	46
Figura 15.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na ausência e na presença de G15 em anéis de aorta com endotélio funcional.	47
Figura 16.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na ausência e na presença de Wortmannin e LY 294002 em anéis de aorta com endotélio funcional	48
Figura 17.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na ausência e na presença de PP2 em anéis de aorta com endotélio funcional	49
Figura 18.	Curva cumulativa concentração-resposta para FPI na ausência e na presença de MnTMPyP em anéis de aorta com endotélio funcional.	50
Figura 19.	Curvas cumulativas concentração-resposta para catequina, miricetina e catequina mais miricetina em anéis de aorta com endotélio funcional.	51
Figura 20.	Relaxamento máximo e potência de catequina, miricetina e associação catequina/miricetina	51
Figura 21.	Variação na PAS após a administração por via intraperitoneal de salina em animais SHAM e após a administração da FPI (10 mg/kg) em animais SHAM e DOCA	52
Figura 22.	Variação na PAS após a administração por via oral de veículo (labrasol 50%) em animais SHAM e após a administração da FPI (10 mg/kg) em animais SHAM e DOCA	53

Figura 23.	Aumento da concentração sérica de nitrito após a administração da FPI (10 mg/kg), por via intraperitoneal	54
Figura 24.	Mecanismos envolvidos na ativação eNOS desencadeada pela FPI	64

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E FÓRMULAS QUÍMICAS

Ang II: angiotensina II

ANOVA: análise de variância

AVE: acidente vascular encefálico

BH4: tetra-hidrobiopterina

CaM: calmodulina

CO<sub>2</sub>: gás carbônico

DCV: doença cardiovascular

DIC: doença isquêmica do coração

DNA: ácido desoxirribonucleico

DOCA: acetato de deoxicorticosterona

E<sub>1</sub>: estrona

E<sub>2</sub>: estradiol

E<sub>3</sub>: estriol

EDHF: fator hiperpolarizante derivado do endotélio

EDRF: fator relaxante derivado do endotélio

eNOS ou NOS III: óxido nítrico sintase endotelial

EPM: erro padrão da média

ET-1: endotelina-1

FAD: dinucleotídeo de flavina e adenina

FMN: mononucleotídeo de flavina

FPI: fração polifenólica de *Inga edulis*

g: grama

GCs: guanilato ciclase solúvel

GMPc: guanosina 3',5'- monofosfato cíclico

HAS: hipertensão arterial sistêmica

Hg: mercúrio

iNOS ou NOS II óxido nítrico sintase induzida

kg: quilograma

LDL: lipoproteína de baixa densidade

L-NAME: L-nitroarginina metil éster

MAPk: proteínas quinases ativadas por mitógenos

mg: miligrama

mL: mililitro

MLCK: quinase da cadeia leve da miosina

mm: milímetro

mmol: milimol

NADPH: fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina

nm: nanômetro

nNOS ou NOS I: óxido nítrico sintase neural

NO: óxido nítrico

$\text{NO}_2^-$ : nitrito

ns: não significativo

$\text{O}_2$ : gás oxigênio

$\text{O}_2^-$ : superóxido

ORAC: [capacidade de absorção de oxigênio radical](#)ar

PA: pressão arterial

$\text{PGI}_2$ : prostaciclina

PI3k fosfatidilinositol-3-quinase

PKG: proteína quinase G

ROS: espécies reativas do oxigênio

rpm: rotações por minuto

SOD: superóxido dismutase

SPE-C18: extração em fase sólida carbono 18

TEAC: capacidade antioxidante equivalente ao Trolox

$\mu\text{L}$ : microlitro

$\mu\text{mol}$ : micromol

**Palavras-chave:** polifenóis, *Inga edulis*, reatividade vascular, pressão arterial, hipertensão

**Keywords:** polyphenols, *Inga edulis*, vascular reactivity, blood pressure, hypertension

**Total de páginas:** 76