



**AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE E POTENCIAL REDUTOR E QUELANTE DE  
FERRO DO COMPOSTO LUTEÍNA**

**Larissa Silva Lima<sup>1</sup>, Antonia Joana Darque Silva Campos<sup>2</sup>, Larisse Bernardino dos Santos<sup>3</sup>, Paloma Danuze Duarte Viração<sup>4</sup>, Carlos Alonso Leite dos Santos<sup>5</sup>, Elayne Eally Silva de Oliveira Morais<sup>6</sup>, Antônia Eliene Duarte<sup>7</sup>, Luiz Marivando Barros<sup>8</sup>**

**Resumo:** A luteína, carotenóide dihidroxilado pertencente a classe das xantofilas de coloração amarela, atua como antioxidante protegendo as células dos danos oxidativos, reduzindo o risco de desenvolvimento de algumas doenças crônicas degenerativas. Uma vez que o estresse oxidativo e atuação dos radicais livres são os maiores fatores associados à iniciação e propagação do desenvolvimento destas doenças. O presente estudo objetivou-se analisar a atividade antioxidante e Potencial Quelante e Redutor de Ferro (Ortofenantrolina) do composto luteína. Em análise aos resultados, o efeito da luteína nos radicais de DPPH nas concentrações (32, 64, 128, 256, 512 e 1024 µg/mL), apresentaram resultados significativos ( $p < 0,0001$ ) quando comparados ao grupo controle (ácido ascórbico). A luteína causou redução da quantidade de  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  nas diferentes concentrações. As concentrações do composto demonstram alto poder redutor em todos os momentos analisados. Conclui-se que fica evidenciado, a ação antioxidantes da luteína sobre a oxidação causado por radicais livres, o aumento na concentração do  $Fe^{2+}$  e  $Fe^{3+}$  demonstra a inibição na redução dos estresses oxidativos.

**Palavras-chave:** Luteína. Ortofenantrolina. Antioxidante.



### 1. Introdução

A luteína pertence à família das xantofilas, considerada uns dos principais carotenóides di-hidroxiados, sendo um potente antioxidante que previne danos causados por radicais livres nos tecidos. A correlação entre altos níveis de carotenóides e benefícios a saúde apareceu na década de 70 (FRASER, 2004). A luteína, age protegendo as células contra danos oxidativos, reduzindo os riscos de desenvolvimento de algumas doenças crônicas degenerativas. Uma vez que o estresse oxidativo junto com os radicais livres são os maiores fatores associados à iniciação e propagação do desenvolvimento destas doenças (ALVES-RODRIGUES, 2004).

De acordo com Bakó et al. (2002), afirmam que além de percussores de vitaminas, estes pigmentos que também apresentam funções fisiológicas, tais como prevenção de doenças degenerativas como câncer e outras infecções de pele. Estudos comprovam que a luteína protege moléculas de lipídios, proteínas, lipoproteínas de baixa densidade, membrana plasmática e DNA contra o ataque de radicais, tendo um papel essencial na proteção de doenças, notadamente na redução do risco de a degeneração relacionada a idade (DMRI), cataratas e diabetes (STRINGHETA, 2006).

Compostos naturais, contendo duplas ligações conjugadas, atuam por seu efeito antioxidante na eliminação de radicais livres (ALVES-RODRIGUES, 2004). Dos principais benefícios associados a luteína, além das evidências da redução do risco de desenvolvimento da DMRI, destacam-se os efeitos benéficos na proteção e contra outras doenças degenerativas. Estudos realizados com animais e humanos demonstram que a concentração de luteína no sangue e nos tecidos está estreitamente relacionada com o consumo de alimentos ricos neste carotenóide (STRINGHETA, 2006).

### 2. Objetivo

O presente estudo objetivou-se analisar a atividade antioxidante e Potencial Quelante e Redutor de Ferro (Ortofenantrolina) do composto luteína.

### 3. Metodologia

#### 3.1 Teste de DPPH

A atividade de eliminação de radicais livres do composto da luteína foi medida com o radical estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), seguindo o método de kamdem *et al.* (2012), com algumas modificações. Resumidamente, 50 µL do composto da luteína em diferentes concentrações (30-480 g/mL) foram misturadas com 100 µL de solução DPPH recém-preparada (0,3 mM em etanol).



Em seguida, a placa foi mantida no escuro à temperatura ambiente por 30 min. A redução do radical DPPH foi medido monitorando a diminuição da absorção em 517 nm usando um leitor de microplacas.

### 3.2 Atividade Quelante de Ferro

A capacidade quelante do composto da luteína foi determinada de acordo com o método modificado de Kamdem *et al.* (2013). A mistura de reação contendo 58 µL de solução salina (0,9%, p/v), 45 µL de Tris-HCl (0,1 µM, pH, 7,5), 27 µL de extratos (64-1024 µg/mL) e 36 µL de 110 µM FeSO<sub>4</sub> foi incubado por 10 min a 37 °C. Em seguida, 34 µL de 1,10-fenantrolina (0,25%, p/v) foram adicionados e a absorbância do complexo de cor laranja formado foi medida em 0, 10, 20 e 30 min a 510 nm (contra soluções em branco das amostras) usando o leitor de microplacas (SpectraMax).

### 3.3 Fe<sup>3+</sup> Poder Redutor do Composto da Luteína

A propriedade redutora de Fe<sup>3+</sup> da luteína foi determinada usando um método modificado de Kamdem *et al.* (2013). Uma mistura de reação contendo solução salina (58 µL, 0,9%, p/v), Tris-HCl (45 µL, 0,1 M, pH, 7,5), a luteína (27 µL, 64-1024 µg/mL), e FeCl (36 µg/mL, 110 µM) foi incubado por 10 min a 37 °C. Subsequentemente, 1,10-fenantrolina (34 µL, 0,25%, p/v) foi adicionada e a absorbância do complexo laranja formado foi medida em 0, 10, 20 e 30, min a 510 nm (contra soluções em branco das amostras) usando o leitor de microplacas. Após os 30 minutos da última leitura o agente redutor, ácido ascórbico (concentração final de 5 mM) foi adicionado à mistura de reação.

## 4. Resultados

Em análise aos resultados, o efeito da luteína nos radicais de DPPH nas concentrações (32, 64, 128, 256, 512 e 1024 µg/mL), apresentaram resultados significativos ( $p < 0,0001$ ) quando comparados ao grupo controle (ácido ascórbico). Demonstrou um IC<sub>50</sub> de 0,2 µg/mL, semelhante ao IC<sub>50</sub> do ácido ascórbico de 0,2 µg/mL (Figura 1). O composto Luteína acompanhou o controle de vit. C, evidenciando assim uma potente atividade quando comparada a vit. C. A vitamina C é um componente hidrossolúvel capaz de reduzir a maioria das ROS/RNS fisiologicamente relevantes (HALLIWELL, 1999), além disto regenera o alfa-tocoferol participando também no mecanismo protetor contra lipoperoxidação (AMES, 2001).

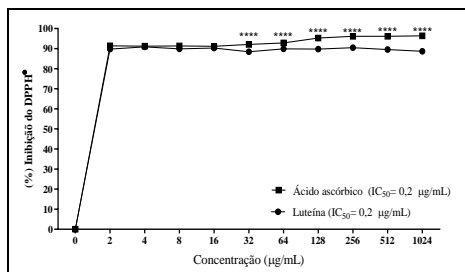


Figura 1 - Efeito antioxidante da luteína e do ácido ascórbico nas diferentes concentrações testadas (2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 e 1024 µg/mL), demonstrado pela inibição do radical DPPH. Os valores representam a média ± SEM de três experimentos que foram realizados em triplicata. \*\*\*\* p<0.0001, quando comparado ao grupo controle (+)

A luteína causou redução da quantidade de Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup> (Figura 2), ferro é essencial para maioria dos sistemas biológicos, por ter uma variedade de funcionalidades fisiológicas importantes, como participação em processos metabólicos que incluem transporte de oxigênio, produção de energia, entre outras (ZHANG *et al.*, 2018). No entanto a sobrecarga de ferro provoca o estresse oxidativo, levando a oxidação de elementos celulares importante ao bom funcionamento do organismo, provocando alterações na conformação de proteínas e neuro degeneração (FERNANDEZ, 2007).

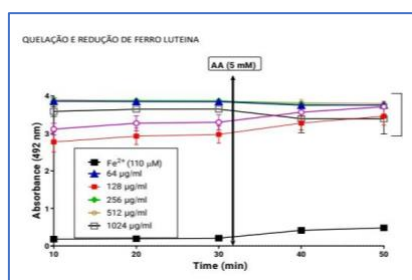


Figura 2 - Capacidade quelante/oxidante Fe<sup>2+</sup> da luteína nas diferentes concentrações testadas (64, 128, 256, 512 e 1024 µg/mL) e controle (Fe<sup>2+</sup> 110 µM), demonstrados pela absorvância do complexo orto-fenantrolina-Fe<sup>2+</sup>. Os valores representam a média ± SEM de três experimentos que foram realizados em triplicata.

Como mostra a Figura 3, a redução de Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup> foram semelhantes, mais em concentrações diferente, podendo assim observar a oxidação foi um pouco mais resistente nos respectivos tempos de verificação (10, 20, 30, 50 min), apresentando valores de absorvância maiores que os observados na curva de controle (Fe<sup>3+</sup>). As concentrações do composto demonstram alto poder redutor em todos os momentos analisados.

El-Agamey *et al.*, (2004), afirmam que as propriedades antioxidantes dos carotenóides são atribuídas à sua estrutura, pela presença de elevado número de duplas ligações alternadas. Estas permitem a absorção da energia das espécies reativas do oxigênio (EROs), canalizando-a através da longa cadeia de duplas ligações que se encontram em ressonância. A energia é finalmente liberada na forma de calor, regenerando a molécula de carotenóide ao seu estado inicial (SOUTHON, 2003).

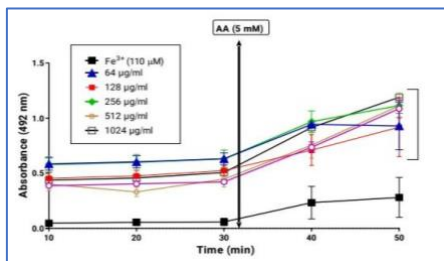


Figura 3. Potencial redutor de Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup> da luteína nas diferentes concentrações testadas (64, 128, 256, 512 e 1024 µg/mL) e controle (Fe<sup>3+</sup> 110 µM), demonstrados pela absorbância do complexo orto-fenantrolina-Fe<sup>2+</sup>. Os valores representam a média ± SEM de três experimentos que foram realizados em triplicata.

## 5. CONCLUSÃO

Conclui-se que fica evidenciado, a ação antioxidante da luteína sobre a oxidação causada por radicais livres, o aumento na concentração do Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup> demonstra a inibição na redução dos estresses oxidativos. Estudos já publicados nos confirmam que a luteína tem a capacidade de combater o estresse oxidativo e a oxidação causada por Fe<sup>2+</sup> e Fe<sup>3+</sup> e de proteger as células contra doenças degenerativas.

## 6. Agradecimentos

Agradeço a Universidade Regional do Cariri-URCA, o Laboratório de Ecofisiologia Vegetal (LECOV), ao Laboratório de Biologia e Toxicologia (BIOTOX), aos meus orientadores e colegas presentes na realização do trabalho e a Fundação de Apoio à Pesquisa do Ceará (FUNCAP).

## 7. Referências

- ALVES-RODRIGUES, A.; SHAO, A. The science behind lutein. *Toxicol Lett.*, v. 150, p. 57-83, 2004.
- AMES BN. DNA damage from micronutrient deficiencies is likely to be a major cause of cancer. *Mutat Res.* 2001; 475(1-2):7-20.
- BAKÓ, E.; DELI, J.; TÓTH, G. HPLC study on the carotenoid composition of calendula products. *J. Biochem. Biophys. Methods*, v. 53, p. 242-250 2002.
- KAMDEM, J.P.; STEFANELLO, S.T.; BOLIGON, A.A.; WAGNER, C.; KADE, I.J.; PEREIRA, R.P.; PRESTE, A.D.S.; ROOS, D.H.; WACZUK, E.P.; APPEL, A.S. In vitro antioxidante activity of stem Baruk of *Trichilia Catiguá* ADR. Juss. *Acta Pharmaceutica*, v. 62, n. 3, p. 371-382, 2012.
- KAMDEM, J.P.; ADENIRAN, A.; BOLIGON, A.A.; KLIMACZEWSKI, C.V.; ELEKOFEHINTI, O.O.; HASSAN, W.; IBRAHIM, M.; WACZUK, E.P.; M EINERZEI, D.F.; ATHAYDE, M.L. Antioxidant activity, genotoxicity and cytotoxicity evaluation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) ethanolic extract: Its potential role in neuroprotection. *Industrial Crops and Products*, v. 51, p. 26-34, 2013.
- EL-AGAMEY, A. et al. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties. *Arch. Biochem. Biophys.*, v. 430, p. 37-48, 2004.
- FRASER, P.D.; BRAMLEY, P.M. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Prog. Lipid Res.*, v. 43, p. 228-265, 2004.

# VII SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA – XXV

## Semana

### de Iniciação Científica da URCA e VIII Semana de Extensão da URCA

12 a 16 de dezembro de 2022

Tema: “DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA, INDEPENDÊNCIA E SOBERANIA NACIONAL”



HALLIWELL B. Oxygen and nitrogen are pro-carcinogens. Damage to DNA by reactive oxygen, chlorine and nitrogen species: measurement, mechanism and the effects of nutrition. *Mutat Res.* 1999; 443(1-2):37-52.

HALLIWELL B. Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? *Trends Biochem Sci.* 1999; 24(7):255-9.

SOUTHON, S.; FAULKES, R. Carotenoids in food: bioavailability and functional benefits. In: SOUTHON, S.; FAULKES, R. *Phytochemical functional foods*. Chicago: Woodhead CRC LLC, 2003. cap. 7.

ZHANG, H., ZHABYEYEV, P., WANG, S., OUDIT, G.Y., 2018. Role of iron metabolism in heart failure: from iron deficiency to iron overload. *BBA-Molecular Basis of Disease*. 2018.