

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”



**AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE, POTENCIAL REDUTOR E QUELANTE DE
FERRO DO COMPOSTO CAFEÍNA**

Larisse Bernardino dos Santos¹, Paloma Danuze Duarte Viração², Antonia Joana Darque Campos³ Larissa Silva Lima⁴ Carlos Alonso Leite dos Santos⁵ Bárbara Rayanne da Silva Teles⁶ Antonia Eliene Duarte⁷ Luiz Marivando Barros⁸

Resumo: A cafeína é considerada uma das principais substâncias psicoativas mais utilizadas no mundo devido ao seu sabor e efeitos estimulantes. Estudos relatam que a cafeína apresenta atividade farmacológica e ação neuroprotetora, prevenindo doenças como Parkinson, diabetes tipo 2, Alzheimer e câncer colorretal, porém o consumo excessivo, pode causar efeitos adversos. O presente estudo objetivou-se analisar a atividade antioxidante e potencial quelante e redutor de ferro (Ortofenantrolina) do composto Cafeína. Em análise aos resultados, todas as concentrações (2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 e 1024 µg/mL), apresentaram um efeito relevante na capacidade de reduzir o radical DPPH, de modo que o IC₅₀ da cafeína foi de 0,03g/mL, enquanto o do ácido ascórbico (controle positivo) foi de 0,02 µg/mL. As concentrações de 64 e 128 µg/mL do composto demonstram alto poder redutor em todos os momentos analisados. Constatou-se que a cafeína tem efeitos antioxidantes, sendo evidenciado com os testes de DPPH e o teste de orto-fenantrolina.

Palavras-chave: Cafeína. DPPH. Ortofenatrolina.

1. Introdução

A cafeína apresenta atividade farmacológica e ação neuroprotetora, dentre eles efeitos no sistema nervoso central (SNC), sistema cardiovascular e homeostase de cálcio (DE MARIA, MOREIRA, 2006; THEOHARIDES *et al.*, 2015). Sua atuação SNC é um dos principais efeitos fisiológicos da cafeína no organismo, pois promove a liberação de neurotransmissores, que irá fornecer energia, diminuir a fadiga e melhorar o desempenho motor, podendo afetar também os tecidos periféricos (BARCELOS *et al.*, 2020).

-
- 1 Universidade Regional do Cariri, email: larissebernardinno@gmail.com
 - 2 Universidade Regional do Cariri, email: palomaviracao2016@gmail.com
 - 3 Universidade Regional do Cariri, email: joanadarque08.silva@gmail.com
 - 4 Universidade Regional do Cariri, email: larissa.lima@urca.br
 - 5 Universidade Regional do Cariri, email: carlos.alonso@urca.br
 - 6 Universidade Regional do Cariri, email: barbararayanne.teles@urca.br
 - 7 Universidade Regional do Cariri, email: duarte105@yahoo.com.br
 - 8 Universidade Regional do Cariri, email: imarivando@hotmail.com

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”



Os efeitos antioxidantes da cafeína proporcionam a neutralização das reativas espécies de oxigênio (ROS), responsáveis por causar o estresse oxidativo (MARTINI *et al.*, 2016; OFLUOGLU *et al.*, 2009). Os radicais livres são controlados por compostos antioxidantes, que proporciona a estabilidade entre os antioxidante e oxidante (SOUSA *et al.*, 2007).

A produção excessiva desses radicais é responsável por danos oxidantes nos tecidos e células, esses danos têm sido relacionados à causa de várias doenças (FERREIRA, 1997). Assim os antioxidantes têm grande importância na prevenção e tratamentos de doenças neurodegenerativas, realizado junto com a superóxido dismutase e catalase (OLIVEIRA *et al.*, 2015). Muitos estudos relatam que a cafeína em doses moderadas pode prevenir doenças como Parkinson, diabetes tipo 2, Alzheimer e câncer colorretal (AHSAN, BASHIR, 2019).

2. Objetivo

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

3. Metodologia

3.1 Ensaio antioxidante do DPPH

A atividade de eliminação de radicais livres do composto da cafeína 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 cafeína 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 (SpectraMax, Sunnyvale, CA, EUA).

3.2 Atividade Quelante de ferro

A capacidade quelante do composto da cafeína 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 cafeína (64-1024 µg/mL) e 36 µL de 110 µM FeSO₄ 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, 30 min a 492 nm usando o leitor de microplacas.

3.3 Fe³⁺ poder redutor do composto cafeína

A propriedade redutora de Fe³⁺ da cafeína 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 cafeína (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, 30 min a 492 nm (contra soluções em branco das amostras) usando o leitor de microplacas SpectraMax (Molecular Devices, Orleans Drive Sunnyvale CA, EUA). Após os 30 min da última leitura o agente redutor, ácido ascórbico (concentração final de 5 mM) foi adicionado à mistura de reação.

4. Resultados

5.

4.1 Efeito da cafeína no radical DPPH

Em análise aos resultados, todas as concentrações (2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 e 1024 $\mu\text{g/mL}$), apresentaram um efeito relevante na capacidade de reduzir o radical DPPH, de modo que o IC_{50} da cafeína foi de 0,03g/mL, enquanto o do ácido ascórbico (controle positivo) foi de 0,02 $\mu\text{g/mL}$, exibindo um controle positivo sobre o DPPH, destacando-se maior significância para 256, 512 e 1024 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 1). Estudos evidenciam que a cafeína apresenta atividade antioxidante, dependendo da quantidade consumida, para resultados positivos ou adversos no aparecimento de doenças (BARCELOS *et al.*, 2020). Estudos consoantes aos nossos resultados descrevem que, a cafeína demonstrou ser um bom sequestrador de radical hidroxila preservando as células contra o dano oxidativo, porém não reparando diretamente o dano oxidativo (VIEIRA *et al.*, 2020).

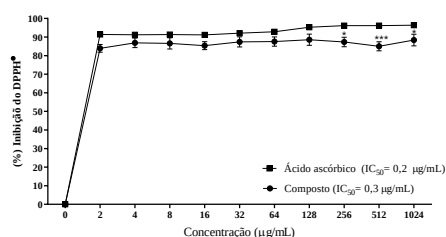


Figura 1 - Efeito antioxidante da cafeína e do ácido ascórbico, nas diferentes concentrações testadas (2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 e 1024 $\mu\text{g/mL}$), demonstrado pela inibição do radical DPPH. Os valores representam a $\pm$ SEM de três experimentos que foram realizados em triplicata, *** $p<0.001$, * $p<0,05$, quando comparado ao grupo controle.

4.2 Atividade quelante e redutor de ferro

A utilização do composto da cafeína com Fe^{2+} teve aumento na absorbância quando comparado ao grupo controle, e se manteve estável até adicionar o controle, vitamina C. Causando uma diminuição na absorbância em 492 nm com efeito semelhante em quase todas as concentrações (Figura 2).

Estudos demonstram a habilidade dos antioxidantes de quelar os metais e evitar a peroxidação lipídica e o estresse oxidativo (OBOH; PUNTEL, ROCHA, 2007). Dessa forma, é possível presumir que a inibição induzida por Fe^{2+} na presença do composto foi resultado tanto da interação direta com radicais livres quanto via quelatação de espécies $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$.

O poder de reduzir Fe^{3+} a Fe^{2+} do composto da cafeína (figura 3), foi semelhante em quase todas as concentrações (64, 128, 256, 512 e 1024 $\mu\text{g/mL}$) nos respectivos tempos de verificação (10, 20, 30, 50 min), apresentando valores de absorbância maiores que os observados na curva de controle (Fe^{3+}). As concentrações de 64 e 128 $\mu\text{g/mL}$ do composto demonstram alto poder redutor em todos os momentos analisados.

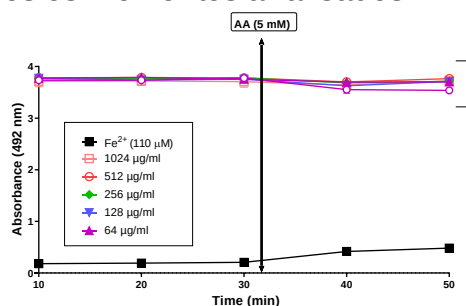


Figura 2. Capacidade quelante/oxidativo Fe^{2+} da cafeína nas diferentes concentrações testadas (64, 128, 256, 512 e 1024 $\mu\text{g/mL}$) e controle (Fe^{2+} 110 μM), demonstrados a absorbância do complexo orto-fenantrolina- Fe^{2+} . Os valores representam a média $\pm$ SEM de três experimentos que foram realizados em triplicata.

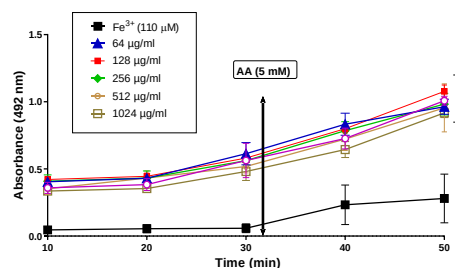


Figura 3. Potencial redutor de Fe^{3+} a Fe^{2+} da cafeína nas diferentes concentrações testadas (64, 128, 256, 512 e 1024 $\mu\text{g/mL}$) e controle (Fe^{3+} 110 μM), demonstrados a absorbância do complexo orto-fenantrolina- Fe^{2+} . Os valores representam a média $\pm$ SEM de três experimentos que foram realizados em triplicata.

De acordo com LI *et al.*, 2019, a eficácia da cafeína e sua ligação com desferrioxamina (DFO) que é um quelante de ferro de eficácia limitada, a ligação apresentou maior permeabilidade celular para quelar ferro intracelular em células de câncer de mama 4T1. Estudos envolvendo pesquisas em ratos com baixo consumo de cafeína pode melhorar as propriedades antioxidantes do donepezil (OBOH *et al.*, 2017). Porém Kolayli *et al.* (2004), os resultados do seu estudo sugerem que a cafeína não altera o equilíbrio de íons metálicos no corpo humano diretamente pela ligação de íons metálicos.

6. Conclusão

Constatou-se que a cafeína tem efeitos antioxidantes, sendo evidenciado com os testes de DPPH e o teste de orto-fenantrolina. Apesar de, alguns autores alegaram que cafeína não tem atividade antioxidante, muitos estudos publicados demonstraram que a cafeína tem efeitos benéficos quando consumido em doses moderadas. A utilização da cafeína ajuda no processo de prevenir o estresse oxidativo, protegendo as células contra doenças degenerativas.

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”



7. 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).

8. Referências

- AHSAN, F.; BASHIR, S. Coffee Consumption: health perspectives and drawbacks. **Journal of Nutrition and Obesity**, v. 2, n. 1, p. 1-5, 2019.
- BARCELOS, R.P.; LIMA, F.D.; CARVALHO, N.R.; BRESCIANI, G.; ROYES, L.F. Caffeine effects on systemic metabolism, oxidative-inflammatory pathways, and exercise performance. **Nutrition Research**, v. 80, p. 1-17, 2020.
- DE MARIA, Carlos AB; MOREIRA, Ricardo FA. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, v. 30, p. 99-105, 2007.
- KAMDEM, J.P.; ADENIRAN, A.; BOLIGON, A.A.; KLIMACZEWSKI, C.V.; ELEKOFEHINTI, O.O.; HASSAN, W.; IBRAHIM, M.; WACZUK, E.P.; MEINERZEI, 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.
- 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 antioxidant activity of stem bark of *Trichilia catigua* Adr. Juss. **Acta Pharmaceutica**, v. 62, n. 3, p. 371-382, 2012.
- KOLAYLI, S.; OCAK, M.; KUÇUK, M.; ABBASOGLU, R. Does caffeine bind to metal ions? **Food chemistry**, v. 84, n. 3, p. 383-388, 2004.
- LI, B.; ESPÓSITO, B. P.; WANG, S.; ZHANG, J.; XU, M.; ZHANG, S.; ZHAN, Z.; LIU, S. Desferrioxamine-caffeine shows improved efficacy in chelating iron and depleting cancer stem cells. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 52, p. 232-238, 2019.
- MARTINI, D.; DEL, B.; TASSOTTI, M.; RISO, P.; DEL RIO, D.; BRIGHENTI, F.; PORRINI, M. Coffee Consumption and Oxidative Stress: A Review of Human Intervention Studies. **Molecules**, v. 21, n. 8, p. 01-20, 2016.
- OBOH, G.; OGUNSUYI, O.B.; OLONISOLA, O. E. Does caffeine influence the anticholinesterase and antioxidant properties of donepezil? Evidence from in vitro and in vivo studies. **Metabolic brain disease**, v. 32, n. 2, p. 629-639, 2017.
- OBOH, G.; PUNTEL, R. L.; ROCHA, J. B. T. Hot pepper (*Capsicum annuum*, *Tepin* and *Capsicum chinense*, *Habanero*) prevents Fe²⁺-induced lipid peroxidation in brain—in vitro. **Food chemistry**, v. 102, n. 1, p. 178-185, 2007.
- OFLUOGLU, E.; PASAOGLU, H.; PASAOGLU, A. The effects of caffeine on L-arginine metabolism in the brain of rats. **Neurochemical research**, v. 34, n. 3, p. 395-399, 2009.
- OLIVEIRA, V. B.; ZUCHETTO, M.; PAULA, C. S.; VERDAM, M. C. S.; CAMPOS, R.; DUARTE, A. F. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Evaluation of antioxidant potential against lipid oxidation and preliminary toxicity of extract and fractions obtained from the fronds of *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, p. 614-621, 2015.
- SOUSA, C. M. D. M.; SILVA, H. R.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S. D.; ARAUJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; ELCIO, D. S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.
- THEOHARIDES, T.C.; STEWART, J.M.; HATZIAGELAKI, E.; KOLAITIS, G. Brain “fog,” inflammation and obesity: key aspects of neuropsychiatric disorders improved by luteolin. **Frontiers in neuroscience**, v. 9, p. 225, 2015.
- VIEIRA, A.J.S.C.; GASPARG, E.M.; SANTOS, P.M.P. Mechanisms of potential antioxidant activity of caffeine. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 174, p. 108968, 2020.