

Escola Superior São Francisco de Assis
Curso de Graduação em Biomedicina

Júlio Berti Biasutti

Julya Tesch

Karin Elza Lima

INVESTIGAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA ASTAXANTINA EM FORMULAÇÃO MANIPULADA

Santa Teresa – ES

2023

Júlio Berti Biasutti

Julya Tesch

Karin Elza Lima

INVESTIGAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA ASTAXANTINA EM FORMULAÇÃO MANIPULADA

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Coordenação do curso de
Biomedicina da Escola Superior São
Francisco de Assis, como requisito parcial
para obtenção do título de Bacharel em
Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Gabriel H. Taufner

Santa Teresa – ES

2023

Júlio Berti Biasutti

Julya Tesch

Karin Elza Lima

INVESTIGAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA ASTAXANTINA EM FORMULAÇÃO MANIPULADA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de Biomedicina da Escola Superior São Francisco de Assis como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovada em ____ de _____ de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gabriel Henrique Taufner
Escola Superior São Francisco de Assis

Prof. Me. Vytor Hugo Mendes
Escola Superior São Francisco de Assis

Profa. Ma. Letícia Karolini Walger
Escola Superior São Francisco de Assis

Você nunca sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados.

- Mahatma Gandhi

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Deus pela dádiva da vida e pela oportunidade de buscar conhecimento ao longo deste processo, aprendemos que a educação não é apenas uma conquista pessoal, mas também uma bênção divina. Agradecemos a Deus por abrir portas, iluminar nossos caminhos e nos conceder a perseverança necessária.

Que este trabalho seja não apenas um reflexo do nosso esforço, mas também uma expressão de gratidão a Deus, cuja graça nos sustentou em cada passo desta jornada.

A cada membro da nossa família que contribuiu de maneira única para o nosso sucesso, seja por meio de incentivo emocional, compreensão nos momentos de ausência, ou celebração nas conquistas. Agradecemos aos nossos pais pelo exemplo incansável de dedicação e sacrifício.

Neste momento de conclusão, é com imensa gratidão que dedicamos este espaço aos professores que desempenharam papéis cruciais na nossa jornada acadêmica e na realização deste trabalho.

Agradecemos ao nosso orientador, Gabriel Henrique Taufner, pela orientação sábia, apoio constante e paciência dedicada. Suas contribuições críticas moldaram não apenas este trabalho, mas também o nosso crescimento como estudante e profissional. As suas valiosas sugestões foram cruciais neste momento.

Agradecemos também aos professores que, mesmo sem estar diretamente envolvidos neste projeto, contribuíram para a nossa formação ao longo do curso.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do AVE isquêmico e hemorrágico.	11
Figura 2 – Estrutura química da astaxantina.	17
Figura 3 – Estrutura química da astaxantina.	18
Figura 4 – Bandas vibracionais de astaxantina analisadas nas formas de elevada pureza (PA) e formulações manipuladas comercialmente disponíveis.	26
Figura 5 – Análise comparativa das bandas vibracionais em amostras de Astaxantina PA e formulações 1 e 2. Em a) os picos vibracionais 1005-1010 cm ⁻¹ , em b) 1190-1200cm ⁻¹ , em c) 1275-1280cm ⁻¹ , e em d) 1510-1525cm ⁻¹	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Visão comparativa do AVE hemorrágico e isquêmico.....	11
Tabela 2 – Morbidade Hospitalar do SUS em casos de AVE isquêmico e hemorrágico, entre homens e mulheres com faixa etária de 40 a 79 anos, no período de agosto de 2015 a agosto de 2020.....	12
Tabela 3 – Vantagens e desvantagens das principais abordagens terapêuticas destinadas ao tratamento e prevenção de AVE.	14
Tabela 2 – Frequências vibracionais das principais bandas evidenciadas pela espectroscopia de espalhamento Raman em amostras de astaxantina.	27

LISTA DE SIGLAS

AVE	Acidente vascular encefálico cerebral
AAS	Ácido acetilsalicílico
ESFA	Escola Superior São Francisco de Assis
GBD	Global Burden of Disease Study
IFES	Instituto Federal do Espírito Santo
SUS	Sistema único de saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO	11
2.2 EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO.....	12
2.3 ABORDAGENS TERAPÊUTICAS DO AVE	13
2.4 A ASTAXANTINA	14
2.4.1 Propriedades Químicas da Astaxantina	16
3 JUSTIFICATIVA.....	19
4 OBJETIVOS.....	20
4.1 OBJETIVO GERAL.....	20
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
5 ARTIGO CIENTÍFICO	21
6 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1 INTRODUÇÃO

O acidente vascular encefálico (AVE) é caracterizado por alterações na perfusão sanguínea do encéfalo nos quais é sucedido por coágulos que bloqueiam as artérias e leva à interrupção do fluxo nos vasos sanguíneos. O AVE é classificado como a segunda maior causa de morte e limitação do mundo, sendo o isquêmico, o de maior prevalência em países em desenvolvimento (Kuriakose; Xiao, 2020).

Em âmbito nacional, o AVE é uma das doenças vasculares de maior prevalência, sendo uma das principais causas de mortalidade. Em 2022, foram registrados aproximadamente 88 mil óbitos, o equivalente à média de 12 óbitos por hora, ou aproximadamente 307 vítimas fatais por dia (DATASUS, 2022).

Cerca de 20% dos casos de AVE são do tipo hemorrágico, que é decorrente de um rompimento no vaso sanguíneo cerebral, ocasionando uma hemorragia. Suas principais causas são a má formação arteriovenosa, o aumento da pressão arterial, ou por meio de um aneurisma, que causa a dilatação do vaso sanguíneo. A fase inicial do seu tratamento é estabelecer o local e causa da hemorragia, além de monitorar a pressão arterial e cerebral. Há casos que o paciente necessite de cirurgia para prevenir ou parar o sangramento (Bastos; Duarte; Silva, 2022). De outro modo, o AVE do tipo isquêmico corresponde a 80% dos casos, sendo caracterizado pela interrupção do fluxo sanguíneo para o cérebro por um coágulo, causando a morte neuronal da área irrigada.

Geralmente, o tratamento de escolha envolve a remoção do trombo para que o fluxo sanguíneo seja restabelecido na área isquêmica. Normalmente a remoção do trombo é realizada através de cateteres que removem mecanicamente o coágulo ou através de medicamentos trombolíticos.

Diante da alta morbidade e mortalidade associada ao AVE, as opções de tratamento ainda permanecem restritas, e a principal abordagem terapêutica utilizada são os medicamentos anti-trombolíticos endovenosos, como indutores de plasminogênio tecidual recombinante (rt-PA), utilizado como meio de desobstruir e restabelecer o fluxo sanguíneo, diminuindo a morte tecidual (Guzik; Bushnell, 2017).

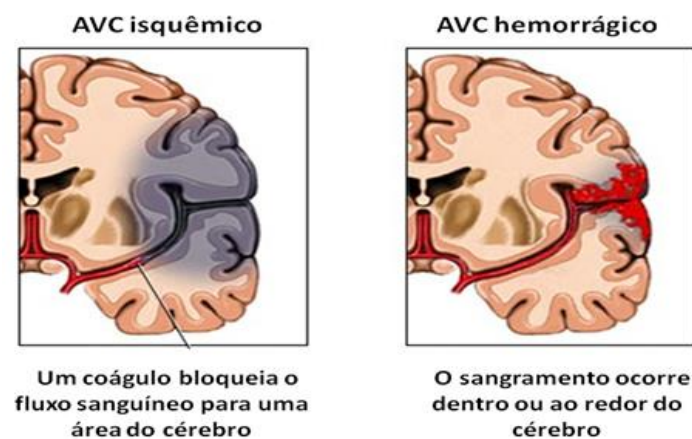
A astaxantina, um carotenoide lipossolúvel pertencente à classe das xantofilas, tem emergido como um agente de interesse na pesquisa biomédica, particularmente no contexto da prevenção e mitigação do acidente vascular encefálico (AVE). Estudos corroboram a capacidade da molécula em desempenhar um papel preponderante devido às suas propriedades antioxidantes, as quais se afiguram cruciais na salvaguarda das células neurais contra lesões ocasionadas por estresse oxidativo, fenômeno intimamente associado à patogênese do AVE (Alugoju et al., 2022; Cunha et al., 2023). Diante desse fato, é imprescindível o direcionamento de esforços de modo a elucidar potenciais novas abordagens terapêuticas capazes de prevenir ou até mesmo atenuar a extensão da lesão cerebral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ACIDENTE VASCULAR ENCEFÁLICO

O acidente vascular encefálico é um transtorno neurológico caracterizado por alterações na perfusão do cérebro. É uma condição neurológica complexa na qual pode acarretar lesões que prejudiquem o funcionamento cerebral em decorrência da formação de coágulos que bloqueiam as artérias e ocasiona a ruptura dos vasos sanguíneos que gera o extravasamento sanguíneo. A interrupção do fluxo sanguíneo leva a falta de oxigênio e suprimentos, ocasionando a limitação ou a interrupção da atividade cerebral da área atingida (Kuriakose; Xiao, 2020).

Figura 1 – Representação do AVE isquêmico e hemorrágico.



Fonte: Sociedade Brasileira de AVC (2023)¹

Tabela 1 – Visão comparativa do AVE hemorrágico e isquêmico.

Hemorrágico	Isquêmico
Ruptura de vaso	Não há ruptura de vaso
Extravasamento de sangue	Bloqueio da passagem de sangue
20% dos casos	80% dos casos
Maior risco de morte	Menor risco

Fonte: Sociedade Brasileira de AVC (2023).

¹ Sociedade Brasileira de AVC. Disponível em: <https://avc.org.br/pacientes/acidente-vascular-cerebral/>. Acesso em: 12/06/2023.

2.2 EPIDEMIOLOGIA E FATORES DE RISCO

O AVE é a segunda maior causa de morte no mundo. Estudos comprovaram que cerca de 13,7 milhões de pessoas foram afetadas e morrem aproximadamente 5,5 milhões anualmente. Cerca de 87% dos acidentes encefálicos são isquêmicos, prevalecendo o aumento entre 1990 e 2016, havendo a diminuição da mortalidade e o melhoramento nas intervenções. A ocorrência de AVE dobrou os seus valores em países de baixa e média renda por volta de 1990 e 2016, teve uma diminuição de 42% em países que possuem alta renda no mesmo tempo. Conforme dito pela *Global Burden of Disease Study* (GBD), por mais que a prevalência tenha reduzido, sexo, idade, localização geográfica, possuem grande importância quanto a situação socioeconômica e a prevalência do AVE com o passar dos anos (Roger et al., 2011).

Há alguns fatores de risco que predispõe o desenvolvimento do AVE, dentre eles podem ser citados: as cardiopatias, ataque isquêmico transitório prévio, hipertensão, tabagismo, diabetes mellitus, etilismo, obesidade, fatores genéticos, o uso de contraceptivos hormonais, fatores pró-trombóticos e hipercolesterolemia. A incidência do AVE é maior em indivíduos com idade superior a 40 anos, estando correlacionado aos fatores citados anteriormente (Correia et al., 2018).

Tabela 2 – Morbidade Hospitalar do SUS em casos de AVE isquêmico e hemorrágico, entre homens e mulheres com faixa etária de 40 a 79 anos, no período de agosto de 2015 a agosto de 2020.

Região	Internações	Valor Serviço Hospitalar (R\$)	Média Permanência	Óbitos	Taxa de Mortalidade
Norte	19.108	21.205.618,13	7,8 dias	3.181	16,65
Nordeste	96.228	100.054.932,70	7,4 dias	14.508	15,08
Sudeste	193.601	251.936.361,38	7,3 dias	26.981	13,94
Sul	92.333	130.101.809,34	6,8 dias	9.550	10,34
Centro-Oeste	21.368	31.557.851,47	7,1 dias	3.211	15,03
Total	422.638	534.586.573,02	7,2 dias	57.431	13,59

Fonte: Margarido et al., 2021.

2.3 ABORDAGENS TERAPÊUTICAS DO AVE

Diante da alta morbidade e mortalidade associada ao AVE, as opções de tratamento ainda permanecem restritas. A principal abordagem terapêutica utilizada são os medicamentos anti-trombolíticos endovenosos, como indutores de plasminogênio tecidual recombinante (rt-PA), utilizado como meio de desobstruir e restabelecer o fluxo sanguíneo, diminuindo a morte tecidual. A droga permanece inerte no sistema circulatório, ao se unir a fibrina, a substância é ativada, e transforma plasminogênio em plasmina, que possibilita a dissolução da fibrina com relação ao coágulo.

É importante ressaltar que este tratamento em casos de AVE isquêmico agudo, pode proporcionar uma melhora com relação ao progresso clínico do paciente, que iniciam a intervenção logo após o aparecimento dos sintomas. No entanto esta forma terapêutica possui certas contraindicações a depender das condições do paciente, tal como Hemorragia Subaracnóidea, dissecção de aorta, endocardite bacteriana, problemas nos fatores de coagulação, dentre outros.

Em casos em que a terapia trombolítica não é indicada recomenda-se a realização da trombectomia mecânica, um procedimento cirúrgico que utiliza de um cateter que tem a capacidade de se aderir ao êmbolo ou aspira-lo, removendo-o e liberando a passagem sanguínea da veia ou artéria acometida (Martins et al., 2012).

De outro modo, a utilização da aspirina como tratamento antiplaquetário sendo administrada em até 48 horas após o acidente vascular isquêmico reduz o risco de que este se torne recorrente e diminui as chances de complicações hemorrágicas, além de melhorar as condições do paciente a longo prazo (Martins et al., 2012).

Em casos de pacientes que apresentam menos de 75 anos e problema cardiovascular aterosclerótica indica-se a utilização de estatinas de alta intensidade para reduzir a ocorrência do AVE. As estatinas são medicamento capazes de reduzir a concentração do colesterol LDL na corrente sanguínea, além de possuir características antioxidantes e anti-inflamatórias (Vitturi et al., 2020).

Tabela 3 – Vantagens e desvantagens das principais abordagens terapêuticas destinadas ao tratamento e prevenção de AVE.

Abordagem Terapêutica	Vantagens	Desvantagens
Terapia Trombolítica	Rápida restauração do fluxo sanguíneo	Pacientes com problemas trombolíticos não podem realizar este método terapêutico
Trombectomia mecânica	Remoção rápida e completa dos trombos Menor risco de hemorragia	Risco de hemólise e embolia pulmonar
Tratamento antiplaquetário	Reduz o risco de recorrência isquêmica	Deve ser iniciado nas primeiras 48 horas
Estatinas	Reduz a inflamação da área acometida Diminui os níveis de colesterol e triglicerídeos	Micro hemorragias cerebrais Risco de miopatias

Fonte: Adaptado Alves et al., (2022).

A astaxantina, um carotenoide lipossolúvel pertencente à classe das xantofilas, tem emergido como um agente de interesse na pesquisa biomédica, particularmente no contexto da prevenção e mitigação do acidente vascular encefálico (AVE).

Estudos corroboram a capacidade da astaxantina em desempenhar um papel preponderante devido às suas propriedades antioxidantes, as quais se afiguram cruciais na salvaguarda das células neurais contra lesões ocasionadas por estresse oxidativo, fenômeno intimamente associado à patogênese do AVE (Alugoju et al., 2022; Cunha et al., 2023). Ademais, a destacada habilidade da astaxantina de transpor a barreira hematoencefálica confere-lhe uma vantagem distintiva, conferindo proteção direta às células cerebrais (Si; Zhu., 2022).

Os potenciais benefícios da astaxantina no contexto do AVE incluem a atenuação do estresse oxidativo, a modulação da resposta inflamatória, além do aprimoramento do fluxo sanguíneo cerebral (Cunha et al., 2023). Estes efeitos sinérgicos podem contribuir tanto para a prevenção primária em populações de alto risco quanto para a promoção da recuperação em indivíduos afetados por eventos cerebrovasculares.

2.4 A ASTAXANTINA

A astaxantina é um pigmento natural pertencente à família dos carotenoides, encontrado principalmente em algas, bem como em alguns seres vivos marinhos

como camarões, lagostas e salmões, que obtêm a biomolécula a partir da alimentação de pequenos moluscos e algas (Yuan et al., 2011).

Este pigmento natural apresenta grande potencial terapêutico para diversas doenças devido às suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias que, particularmente, despertam interesse no campo da saúde (Zarneshan et al., 2020).

Como antioxidante, a astaxantina tem a capacidade de neutralizar espécies reativas, que são instáveis e causam danos às células, além de estarem associados ao envelhecimento a doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, câncer e doenças neurodegenerativas (Vona et al., 2019). Relatos indicam que a astaxantina apresenta maior poder antioxidante se comparada a outros carotenoides mais conhecidos, como o betacaroteno e a vitamina E (Spahis, Borys, Levy, 2017).

Quanto as propriedades anti-inflamatórias, existem evidências que a astaxantina é capaz de interferir em eventos inflamatórios de maneira positiva modulando a resposta imunológica do organismo. Em particular, a atenuação do processo inflamatório, principalmente crônico, se faz de grande relevância pela necessidade de prevenir e/ou retardar doenças neurodegenerativas, cardíacas e articulares (Zarneshan et al., 2020).

Investigações clínicas sugerem que o uso da astaxantina beneficia a saúde ocular, auxiliando na prevenção de doenças oculares relacionadas à idade, como a degeneração macular. Além disso, também apresenta eficácia na proteção da pele contra danos causados pela exposição aos raios ultravioleta, tornando o seu uso uma arma contra o fotoenvelhecimento (Fakhri et al., 2018).

Estudos preliminares sugerem ainda que o uso deste carotenoide pode conferir efeitos positivos no desempenho físico e na recuperação muscular pós-estresse e na saúde cardiovascular, atenuando efeitos do estresse oxidativo no interior do leito vascular (Fakhri et al., 2018).

A astaxantina apresenta ainda potencial de prevenir e/ou atenuar os efeitos do AVE devido a suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. Devido a sua capacidade antioxidante a astaxantina combate os radicais livres, estas, que são moléculas capazes de causar o estresse oxidativo em células cerebrais. Além disso,

ela pode reduzir a resposta inflamatória excessiva, devido a sua propriedade anti-inflamatória, protegendo assim o tecido cerebral (Chang; Xiong, 2020).

Apesar de suas propriedades benéficas, é importante ressaltar que o estudo dos efeitos terapêuticos e propriedades da astaxantina estão em estágios iniciais, portanto, ainda não há consenso quanto a sua indicação para prevenção e tratamento de doenças (Cunha et al., 2023). Todavia, estudos devem ser realizados de modo a torna-la uma solução eficaz e capaz de conferir resultados positivos.

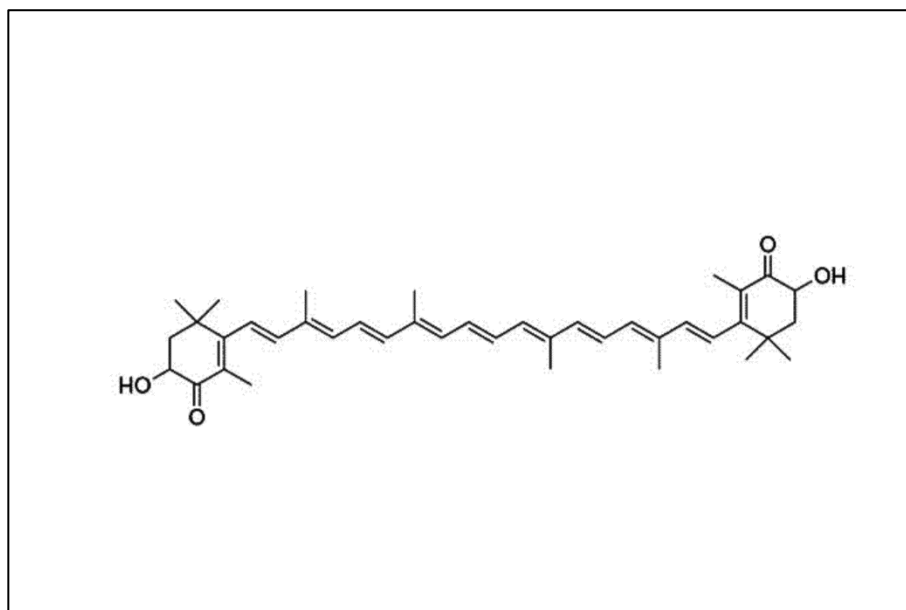
2.4.1 Propriedades Químicas da Astaxantina

A astaxantina é um pigmento carotenoide natural que pertence à classe das xantofilas. Sua fórmula química é $C_{40}H_{52}O_4$, o que significa que ela é composta por 40 átomos de carbono, 52 átomos de hidrogênio e 4 átomos de oxigênio. A estrutura química da astaxantina é caracterizada por cadeias de carbono conjugadas com grupos funcionais de oxigênio em ambas as extremidades, resultando em sua cor vermelha (Higueira-Ciapara; Valenzuela; Goycoolea, 2006).

A astaxantina pertence à subclasse das xantofilas. Estruturalmente, em comparação com outras moléculas da subclasse de caroteno, a xantofila é equipada com grupos contendo oxigênio, como grupos funcionais hidroxila ($-OH$), aldeído ($-CHO$) e grupo ceto ($-CO$) (**Fig. 2**). Especificamente para a astaxantina, os grupos hidroxila ($-OH$) e carbonila ($-CO$) estão ligados a cada anel de ionona, o que explica por que a astaxantina pode exercer suas propriedades antioxidantes correspondentes (Zheng et al., 2022).

Essa substância é encontrada em diversas fontes naturais, incluindo microalgas, crustáceos, peixes e algumas aves, e é responsável pela coloração rosa ou vermelha associada a esses organismos. Além de seu papel como pigmento, a astaxantina também é conhecida por seus potenciais benefícios à saúde devido às suas propriedades antioxidantes (Han et al., 2020).

Figura 2 – Estrutura química da astaxantina.



Fonte: Zheng et al. (2022).

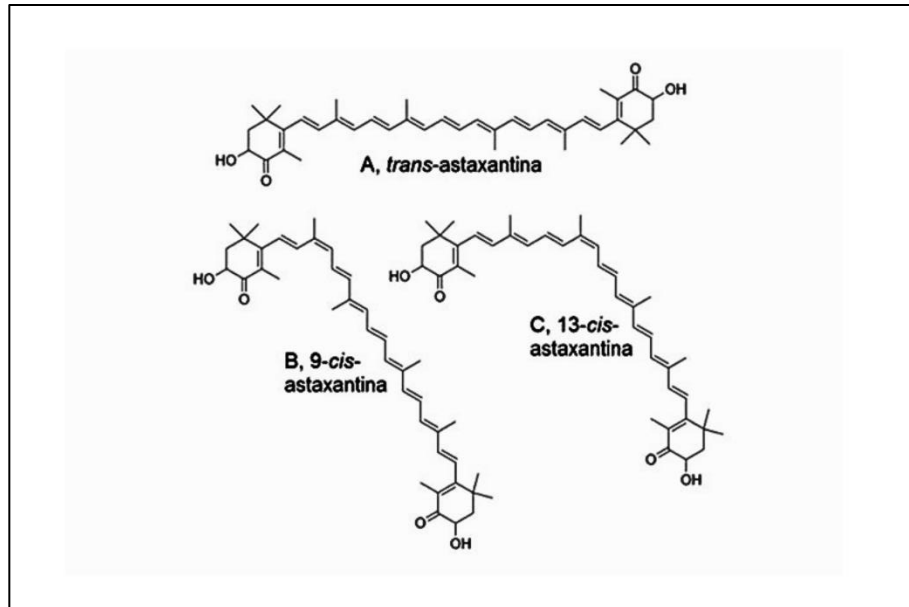
Quanto a estrutura molecular, a astaxantina é uma molécula altamente conjugada, o que significa que ela possui extensas ligações duplas alternadas em sua estrutura. Essas ligações conjugadas são responsáveis por sua coloração vermelha intensa e suas propriedades antioxidantes. A estrutura de astaxantina é formada por uma série de anéis de carbono conjugados, com grupos funcionais de oxigênio nas extremidades (Zheng et al., 2022; Radwan et al., 2023).

O principal mecanismo de eliminação de radicais livres da astaxantina é baseado no arranjo de elétrons centralizados que prontamente doam o elétron para reduzir as moléculas de oxigênio reativas instáveis (Zheng et al., 2022; Radwan et al., 2023). O grupo hidroxila nos anéis pode formar éster com ácidos graxos, assim forma monoésteres e diésteres com um e dois ácidos graxos, respectivamente. Ressalta-se que a isomeria é um dos fatores responsáveis pelo potencial antioxidante da biomolécula (Kim; Kim, 2018).

Existem dois isômeros principais de astaxantina, que são a isômera "cis" e a isômera "trans". A isômera "cis" possui uma configuração geométrica onde os grupos hidroxila (-OH) estão em lados opostos do anel, enquanto a isômera "trans" possui esses grupos hidroxila em lados adjacentes (**Fig. 3**). A isômera "cis" é a forma mais comum

na natureza e é encontrada em organismos como microalgas e alguns crustáceos (Zheng et al., 2022).

Figura 3 – Estrutura química da astaxantina.



Fonte: Zheng et al. (2022).

Ressalta-se que a astaxantina é responsável pela coloração vermelha ou rosa em uma variedade de organismos marinhos, como camarões, salmões e flamingos. Isso ocorre devido à absorção seletiva da luz, onde a astaxantina absorve luz na faixa de comprimentos de onda azuis e verdes e reflete a luz na faixa de vermelho a laranja (Zheng et al., 2022).

3 JUSTIFICATIVA

A astaxantina é um carotenoide natural que tem ganhado crescente destaque na pesquisa científica e na indústria devido às suas notáveis propriedades antioxidantes e benefícios potenciais para a saúde humana. Sua estrutura química e pureza são fatores críticos para entender suas propriedades funcionais e maximizar seu uso em aplicações médicas, nutricionais, farmacêuticas e industriais. Em resumo, o estudo da estrutura química e pureza da astaxantina comercial é fundamental para desvendar seu potencial terapêutico, melhorar a qualidade dos produtos que a contêm e contribuir para a sustentabilidade da sua produção. Além disso, a pesquisa nessa área pode promover avanços científicos que podem ter impactos significativos na saúde humana e no setor industrial.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a composição química de formulações químicas à base de astaxantina a partir da espectroscopia Raman.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os perfis espectrais relacionados às propriedades anti-inflamatória e antioxidante;
- Investigar a pureza molecular dos compósitos manipulados e comercialmente disponíveis.

5 ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo Original

INVESTIGAÇÃO ESPECTROSCÓPICA DA ASTAXANTINA EM FORMULAÇÃO MANIPULADA

TESCH J¹; LIMA K. E¹; BIASUTTI J. B¹; TAUFNER G. H²

¹Graduando em Biomedicina, Escola Superior São Francisco de Assis, Santa Teresa, Brasil

²Docente do Curso de Biomedicina, Escola Superior São Francisco de Assis, Santa Teresa, Brasil

RESUMO

Introdução O acidente vascular encefálico (AVE) é uma condição prevalente, sendo o subtipo isquêmico o mais comum, representando uma significativa causa de morbidade e mortalidade. O tratamento AVE é limitado, sendo centrado em procedimentos cirúrgicos, além de medicamentos anti-trombolíticos endovenosos. A astaxantina, um carotenoide lipossolúvel pertencente à classe das xantofilas, tem emergido como um agente de interesse na pesquisa biomédica, particularmente no contexto da prevenção e mitigação do acidente vascular encefálico devido ao seu potencial antioxidante e anti-inflamatório. **Objetivos** Investigar o perfil espectroscópico de formulações de astaxantina comercialmente disponíveis. **Metodologia** A pesquisa consistiu em uma análise experimental da composição da astaxantina em formulações manipuladas a partir da espectroscopia Raman. **Resultados** A análise espectroscópica forneceu um perfil vibracional detalhado, destacando padrões específicos em torno de 1005-1010 cm⁻¹, 1190-1200 cm⁻¹, 1275-1280 cm⁻¹ e 1510-1525 cm⁻¹. Esses padrões confirmaram a presença da astaxantina nas amostras analisadas. A comparação entre formulações manipuladas e padrões de alta pureza revelou equiparabilidade em frequências vibracionais específicas, sugerindo qualidade molecular aceitável nas versões comerciais. A análise semi-quantitativa da intensidade do sinal reforçou essa conclusão, indicando que as formulações comerciais mantêm um padrão molecular comparável ao controle de alta pureza. **Conclusão** Em resumo, a astaxantina apresenta potencial terapêutico significativo no contexto do AVE, destacando-se por sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. As análises espectroscópicas confirmaram sua presença em diferentes formulações, evidenciando padrões vibracionais específicos. A

equiparabilidade entre formulações comerciais e padrões de alta pureza sugere uma qualidade molecular aceitável nas versões disponíveis no mercado. Contudo, a falta de estudos sobre a toxicidade em casos de consumo excessivo destaca a necessidade de investigações futuras para fortalecer as evidências científicas relacionadas à segurança da astaxantina.

Palavras-chave: Astaxantina, espectroscopia raman, acidente vascular encefálico, qualidade.

ABSTRACT

Introduction Stroke is a prevalent condition, with the ischemic subtype being the most common, representing a significant cause of morbidity and mortality. Stroke treatment is limited, focusing on surgical procedures, in addition to intravenous antithrombotic medications. Astaxanthin, a fat-soluble carotenoid belonging to the xanthophyll class, has emerged as an agent of interest in biomedical research, particularly in the context of preventing and mitigating stroke due to its antioxidant and anti-inflammatory potential. **Objectives** To investigate the spectroscopic profile of commercially available astaxanthin formulations. **Methodology** The research consisted of an experimental analysis of the composition of astaxanthin in manipulated formulations based on Raman spectroscopy. **Results** Spectroscopic analysis provided a detailed vibrational profile, highlighting specific patterns around $1005\text{-}1010\text{ cm}^{-1}$, $1190\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$, $1275\text{-}1280\text{ cm}^{-1}$ and $1510\text{-}1525\text{ cm}^{-1}$. These patterns confirmed the presence of astaxanthin in the analyzed samples. Comparison between manipulated formulations and high purity standards revealed comparability at specific vibrational frequencies, suggesting acceptable molecular quality in commercial versions. Semi-quantitative analysis of signal intensity reinforced this conclusion, indicating that commercial formulations maintain a molecular pattern comparable to the high-purity control. **Conclusion** In summary, astaxanthin has significant therapeutic potential in the context of stroke, standing out for its ability to cross the blood-brain barrier. Spectroscopic analyzes confirmed its presence in different formulations, highlighting specific vibrational patterns. The comparability between commercial formulations and high purity standards suggests acceptable molecular quality in the versions available on the market. However, the lack of studies on toxicity in cases of excessive

consumption highlights the need for future investigations to strengthen scientific evidence related to the safety of astaxanthin.

Keywords: Astaxanthin, raman spectroscopy, stroke, quality.

Introdução

O acidente vascular encefálico (AVE) é uma das doenças de maior prevalência no Brasil, sendo uma das principais causas de mortalidade. Em 2022, foram registrados aproximadamente 88 mil óbitos, o equivalente à média de 12 óbitos por hora, ou aproximadamente 307 vítimas fatais por dia (DATASUS, 2022).

Aproximadamente 20% dos casos de AVE são do tipo hemorrágico, que é decorrente de um rompimento no vaso sanguíneo cerebral. Suas principais causas são a má formação arteriovenosa, o aumento da pressão arterial, ou por meio de um aneurisma, que causa a dilatação do vaso sanguíneo. A fase inicial do seu tratamento é estabelecer o local e causa da hemorragia, além de monitorar a pressão arterial e cerebral. Em determinados casos, o paciente é submetido a cirurgia para atenuar o sangramento (Bastos; Duarte; Silva, 2022).

Na contramão, o AVE do tipo isquêmico corresponde a 80% dos casos, sendo caracterizado pela interrupção do fluxo sanguíneo para o cérebro por um coágulo, causando morte celular da área irrigada. Geralmente, o tratamento de escolha envolve a remoção do trombo para que o fluxo sanguíneo seja restabelecido na área isquêmica. Normalmente a remoção do trombo é realizada através de cateteres que removem mecanicamente o coágulo ou através de medicamentos trombolíticos.

Diante da alta morbidade e mortalidade associada ao AVE, as opções de tratamento ainda permanecem restritas, e a principal abordagem terapêutica utilizada são os medicamentos anti-trombolíticos endovenosos, como indutores de plasminogênio tecidual recombinante (rt-PA), utilizado como meio de desobstruir e restabelecer o fluxo sanguíneo, diminuindo a morte tecidual (Guzik; Bushnell, 2017).

A astaxantina, um carotenoide lipossolúvel pertencente à classe das xantofilas, tem emergido como um agente de interesse na pesquisa biomédica, particularmente no

contexto da prevenção e mitigação do acidente vascular encefálico (AVE). Estudos corroboram a capacidade da molécula em desempenhar um papel preponderante devido às suas propriedades antioxidantes, as quais se afiguram cruciais na salvaguarda das células neurais contra lesões ocasionadas por estresse oxidativo, fenômeno intimamente associado à patogênese do AVE (Alugoju et al., 2022; Cunha et al., 2023). Diante desse fato, é imprescindível o direcionamento de esforços de modo a elucidar potenciais novas abordagens terapêuticas capazes de prevenir ou até mesmo atenuar a extensão da lesão cerebral.

Material e Métodos

Delineamento do Estudo

O estudo consiste em uma pesquisa experimental cujo intuito é avaliar a composição de astaxantina em formulações manipuladas e comercialmente disponíveis. A pesquisa foi realizada a partir de formulações manipuladas, que por sua vez foram processadas e analisadas no Laboratório de Química do Instituto Federal do Espírito Santo, localizado no município da Serra – ES.

Processamento das Amostras

Com auxílio de uma pinça, o conteúdo de uma cápsula de astaxantina manipulada, foi despejado em um microtubo de 2 mL e posteriormente diluído em 1 mL de água deionizada com auxílio de um vórtex.

Avaliação Espectroscópica da Astaxantina

A leitura do espalhamento Raman das amostras foi realizada em triplicata, onde posicionamos aproximadamente 100 µL de amostra sob fragmento de papel alumínio, material responsável por reduzir o ruído e intensificar o sinal. A leitura foi realizada em espectrômetro Raman (*Metrohm Instant Raman Analyzers* – Mira, Metrohm®) ajustado com baixo nível de potência. A partir de laser de 785 nm, as amostras foram investigadas junto as frequências vibracionais encontradas entre 400 e 1800 cm^{-1} , consideradas regiões de impressão digital para compostos orgânicos. Os dados brutos foram analisados junto ao software Origin Pro 8.5 (*Origin Lab Corporation*®, versão trial).

Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o software GraphPad Prism Versão 7.0.1 (GraphPad, USA, versão Trial). Os dados foram analisados quanto à normalidade utilizando o teste Shapiro-Wilk. Todos os dados apresentaram-se dentro de uma distribuição Gaussiana (comparado ao teste de normalidade com $\alpha=0,05$). Foi aplicado o *test One-way ANOVA* para comparação entre dois grupos independentes. As amostras entre os grupos foram consideradas significativas quando $p<0,05$.

Resultados e Discussão

O potencial de neutralizar espécies reativas, além de processos inflamatórios só é possível devido a capacidade das moléculas de astaxantina em atravessar a barreira hematoencefálica, possibilitando o acesso ao sistema nervoso (Zuluaga et al., 2022; Chang et al., 2020). Evidências indicam que a influência da biomolécula vai além da neutralização de espécies reativas e atenuação da inflamação, influenciando também na regulação da expressão gênica de elementos-chave relacionados ao estresse oxidativo e sistema imune (Wang et al., 2022).

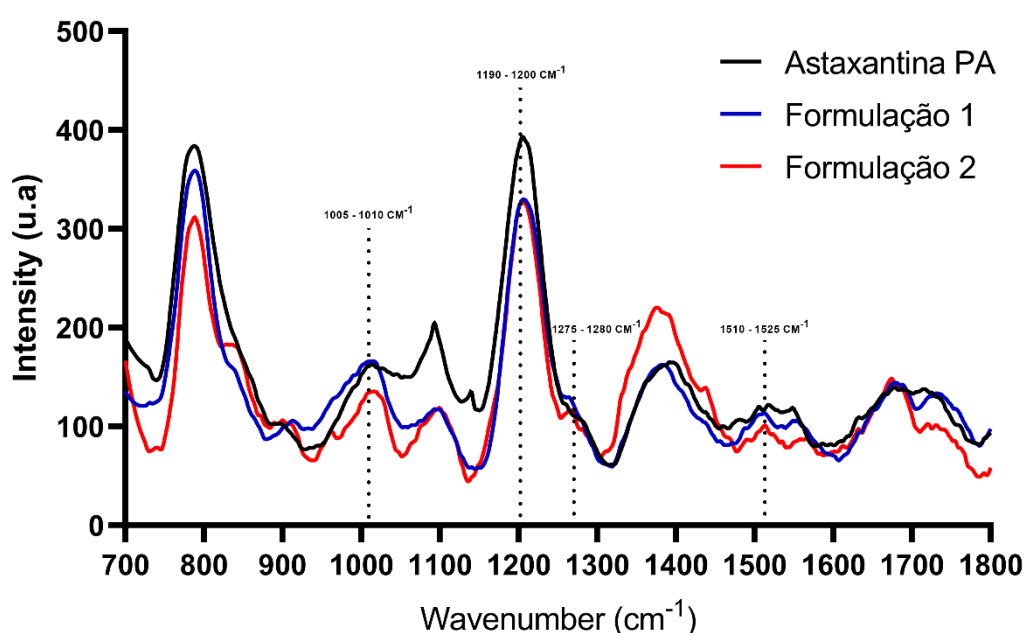
Em síntese, a molécula tem o potencial de aliviar o estresse oxidativo, reduzindo a produção de fatores neuro inflamatórios, inibindo a inflamação periférica e mantendo a integridade da barreira hematoencefálica. Na visão molecular, a astaxantina pode inibir a produção de várias citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina 1 β (IL-1 β), a interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α), através da repressão das vias NF- κ B e proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) (Wang et al., 2022; Ding et al., 2022).

Em nosso estudo, após a análise espectroscópica das amostras de astaxantina, obtivemos por deconvolução espectral, o perfil vibracional da molécula em diferentes formulações e grau de pureza (**Fig. 4**). Cabe ressaltar que a astaxantina pode ser investigada quanto ao seu perfil químico qualitativo e quantitativo, além de funcional, através de abordagens espectroscópicas como a metodologia Raman e por infravermelho, além de técnicas cromatográficas (Hikima et al., 2017; Yao et al., 2022).

Observa-se na figura 4 os picos vibracionais 1005-1010 cm^{-1} , 1190-1200 cm^{-1} , 1275-1280 cm^{-1} e 1510-1525 cm^{-1} , que representam qualitativamente a biomolécula

astaxantina, como observado na tabela 2. O padrão espectral, como evidenciado por Kaczor e colegas (2011), Shao e colegas (2019) e Yao (2022), representa o posicionamento dos grupamentos químicos hidroxila (-OH), carbonila (-CO), aldeído (-CHO) e ceto (-CO) da astaxantina e, portanto, atestam a sua presença nas amostras analisadas neste estudo.

Figura 4 – Bandas vibracionais de astaxantina analisadas nas formas de elevada pureza (PA) e formulações manipuladas comercialmente disponíveis. Destacam-se as frequências vibracionais 1005-1010 cm^{-1} , 1190-1200 cm^{-1} , 1275-1280 cm^{-1} e 1510-1525 cm^{-1} .



Além de atestar qualitativamente a presença da astaxantina nos compostos analisados, é válido ressaltar que os grupamentos químicos evidenciados são característicos de compostos carotenoides com potencial antioxidante e anti inflamatório (Udensi et al., 2022). Segundo Radwan e colaboradores (2023), a presença e disposição dos grupamentos são responsáveis diretos por estabelecer o potencial anti-oxidativo e anti-inflamatório de compostos carotenoides, incluindo a astaxantina.

Tabela 4 – Frequências vibracionais das principais bandas evidenciadas pela espectroscopia de espalhamento Raman em amostras de astaxantina.

Frequência (cm ⁻¹)	Referência
965 - 970 cm ⁻¹	Kaczor, 2011; Shao et al., 2019
1005 - 1010 cm ⁻¹	Castro, 2010; Kaczor, 2011; Gomez, 2013; Shao et al., 2019; Yao, 2022
1155 – 1160 cm ⁻¹	Castro, 2010; Kaczor, 2011; Gomez, 2013; Shao et al., 2019; Yao, 2022
1190 - 1200 cm ⁻¹	Kaczor, 2011; Shao et al., 2019; Yao, 2022
1275 - 1280 cm ⁻¹	Kaczor, 2011; Shao et al., 2019; Yao, 2022
1445 - 1450 cm ⁻¹	Kaczor, 2011; Shao et al., 2019; Yao, 2022
1510 – 1520 cm ⁻¹	Castro, 2010; Kaczor, 2011; Gomez, 2013; Shao et al., 2019; Yao, 2022

Determinadas frequências vibracionais, como em torno de 770 cm⁻¹, 1380 cm⁻¹, 1680 cm⁻¹ podem ser consideradas fatores contaminantes do perfil espectroscópico da astaxantina, tendo em vista que a amostra analisada é diluída em água deionizada. De acordo com Li e colegas (2014), os perfis espectroscópicos próximos a 770cm⁻¹ podem indicar a conformação estrutural da molécula de água.

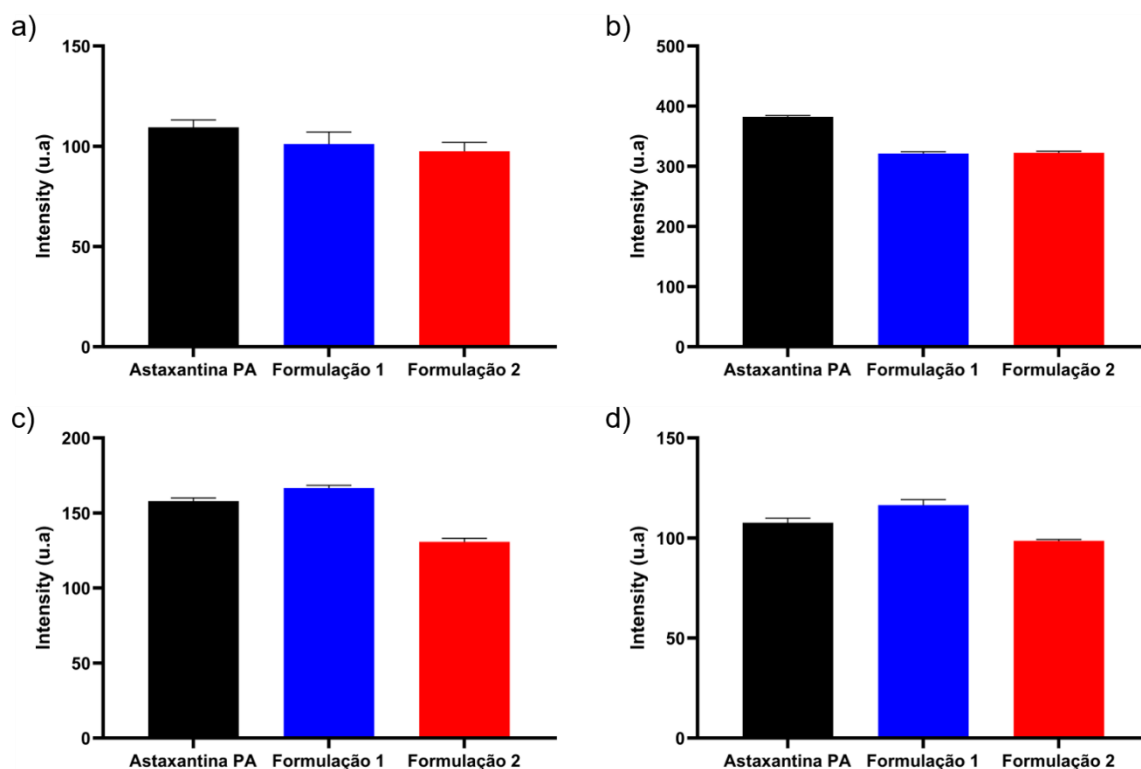
Shah e colaboradores (2016) e Koopmann (2022) evidenciaram em estudo capaz de caracterizar a astaxantina, que formulações comerciais podem apresentar variações em padrões espectrais em resposta aos compostos aditivos e estabilizantes, todavia, tais variações não apresentam efeito sob a funcionalização.

Após avaliação do perfil vibracional, procedemos com a investigação da intensidade de sinal, que se apresenta como uma forma de mensurar de forma semi-quantitativa o grau de pureza, bem como a intensidade da molécula na formulação de alta pureza ou manipulada (Yao et al., 2022).

Em nossa investigação comparamos três amostra da molécula obtidas a partir de formulações de alta pureza, além de manipuladas e comercialmente disponíveis. Nessa análise pudemos evidenciar que as formulações de astaxantina manipuladas são equiparáveis com o padrão de alta pureza quando investigadas em frequências vibracionais específicas, a exceção de determinados picos vibracionais (**Fig. 5a-d**).

Figura 5 – Análise comparativa das bandas vibracionais em amostras de Astaxantina PA e formulações 1 e 2. Em a) os picos vibracionais 1005-1010 cm⁻¹, em b) 1190-

1200 cm^{-1} , em c) 1275-1280 cm^{-1} , e em d) 1510-1525 cm^{-1} . Teste *One-Way* ANOVA, $P < 0,05$.



Os perfis vibracionais estabelecidos a partir do espectro característico da molécula possibilita a investigação da intensidade do grupamento e assim, permite a utilização da técnica como uma medida confiável para atestar a qualidade da formulação comercial.

Em nosso estudo, constatamos de maneira semi-quantitativa que ao compararmos todas as frequências características da astaxantina, não há diferença estatística significativa, o que sugere que os compostos manipulados são equiparáveis ao controle de elevada pureza (**Fig. 5a-d**). Neste contexto, sugere-se que as formulações comerciais apresentam padrão molecular aceitável.

Avaliar a qualidade da astaxantina comercializada é de grande valia, tendo em vista a facilidade na aquisição do produto, além da ascensão na busca de abordagens terapêuticas eficazes para prevenção e atenuação de afecções que acometem o organismo humano, com ênfase especial ao sistema nervoso central. Koopmann e colegas (2022), relatam a relevância da investigação molecular da astaxantina em produtos como as fontes naturais da molécula, além dos compósitos manipuláveis.

Até o momento, são escassos estudos capazes de elucidar a potencial toxicidade da astaxantina quando consumida em excesso. Todavia, Brendler e colegas (2019), sugerem que a ingestão máxima aceitável varia de 2 a 24 mg ao dia em diferentes países. Neste ínterim, com o avanço do interesse acerca do potencial da astaxantina espera-se que novos estudos apresentem evidências científicas relacionadas a segurança do consumo da molécula a partir de fontes naturais e formulações manipuláveis.

Conclusão

Em resumo, a astaxantina apresenta potencial de neutralizar espécies reativas e modular processos inflamatórios. Sua singular capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica amplia seu potencial terapêutico, permitindo acessar o sistema nervoso central, principal sistema acometido em caso de acidente vascular encefálico.

As análises espectroscópicas realizadas forneceram um perfil vibracional detalhado da astaxantina em diferentes formulações e graus de pureza. A presença da biomolécula foi confirmada por padrões vibracionais específicos, destacando-se frequências em torno de $1005\text{-}1010\text{ cm}^{-1}$, $1190\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$, $1275\text{-}1280\text{ cm}^{-1}$ e $1510\text{-}1525\text{ cm}^{-1}$.

A comparação entre formulações manipuladas e padrões de alta pureza revelou equiparabilidade em frequências vibracionais específicas, sugerindo uma qualidade molecular aceitável nas versões comerciais. A abordagem semi-quantitativa da intensidade do sinal reforça essa conclusão, indicando que as formulações comerciais mantêm um padrão molecular comparável ao controle de alta pureza.

Contudo, é crucial observar que, até o momento, a investigação sobre a potencial toxicidade da astaxantina em casos de consumo excessivo é limitada. Embora as sugestões de ingestão máxima aceitável variem, a pesquisa contínua visa preencher essa lacuna, fornecendo evidências sólidas sobre a segurança e eficácia da astaxantina, especialmente diante do crescente interesse em suas propriedades terapêuticas.

Agradecimentos

Agradecemos profundamente à Escola Superior São Francisco de Assis pela inestimável oportunidade de crescimento acadêmico, além da cessão da estrutura laboratorial. Também expressamos nossa sincera gratidão ao Instituto Federal do Espírito Santo (IFES) pelos recursos generosamente disponibilizados, possibilitando a realização de pesquisas e análises mais abrangentes.

Referências

- CUNHA, S. A. et al. Astaxanthin impact on brain: health potential and market perspective. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v.1, n.1, p. 1–24, 7 jul. 2023.
- SI, P.; ZHU, C. Biological and neurological activities of astaxanthin (Review). **Molecular Medicine Reports**, v. 26, n. 4, 8 ago. 2022.
- HIGUERA-CIAPARA, I.; FÉLIX-VALENZUELA, L.; GOYCOOLEA, F. M. Astaxanthin: A Review of its Chemistry and Applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 2, p. 185–196, mar. 2006.
- KIM, S. H.; KIM, H. Inhibitory Effect of Astaxanthin on Oxidative Stress-Induced Mitochondrial Dysfunction-A Mini-Review. **Nutrients**, v. 10, n. 9, 21 ago. 2018.
- ZULUAGA, M. et al. Astaxanthin-antioxidant impact on excessive Reactive Oxygen Species generation induced by ischemia and reperfusion injury. **Chemico-Biological Interactions**, v. 279, n.1, p. 145–158, jan. 2018.
- CHANG, M. X.; XIONG, F. Astaxanthin and its Effects in Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases: Recent Advances and Future Directions. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5342, 16 nov. 2020.
- JACOB-LOPES, E.; MARIA ISABEL QUEIROZ; LEILA QUEIROZ ZEPKA. **Pigmentos do Manual de Microalgas**. Cham: Springer International Publishing, 2020.
- DING, F.; ZHAO, Y. A astaxantina induz respostas transcriptômicas associadas à extensão da vida útil em *Caenorhabditis elegans*. **Antioxidantes**, v. 11, n. 11, pág. 2115, 27 fora. 2022.

YAO, G. et al. Estudo espectral Raman baseado em DFT de isômeros geométricos de astaxantina. **Química Alimentar. Ciências Moleculares**, v. 1, n.1, 30 jul. 2022.

UDENSI, J. et al. Espectroscopia Raman de Compostos Carotenóides para Aplicações Clínicas – Uma Revisão. v. 27, n. 24, pág. 9017–9017, 17 dez. 2022.

RADWAN, B. et al. Captação e efeitos antiinflamatórios da astaxantina lipossomal nas células endoteliais rastreadas por Raman e imagens de fluorescência. **Mikrochimica Acta** , v. 8, n.1, pág. 332, 27 jul. 2023.

LI, Z. et al. Espectroscopia Raman para Monitoramento da Qualidade da Água em Linha - Instrumentação e Potencial. **Sensores** , v. 14, n. 9, pág. 17275–17303, 2014.

SHAH, MD. MR et al. Microalga verde produtora de astaxantina *Haematococcus pluvis*: de célula única a produtos comerciais de alto valor. **Fronteiras na Ciência Vegetal** , v. 7, n.1, 2016.

KOOPMANN, IK; KRAMER, A.; LABES, A. Desenvolvimento e validação de quantificação confiável de astaxantina a partir de fontes naturais. **PLOS ONE**, v. 17, n. 12, pág 1-10, 2 dez. 2022.

YAO, G. et al. Estudo espectral Raman baseado em DFT de isômeros geométricos de astaxantina. **Química Alimentar. Ciências Moleculares**, v. 1, n.1 , 30 jul. 2022.

HUANG, J. et al. Preparação e caracterização de microcápsulas carregadas de astaxantina e sua aplicação em comprimidos efervescentes. **Jornal da Ciência da Alimentação e Agricultura**, v.1, n.1, 10 out. 2022.

BRENDLER, T.; WILLIAMSON, EM Astaxantina: Quanto é demais? Uma revisão de segurança. **Pesquisa em Fitoterapia**, v.1, n.1, dez. 2019.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Diante da alta morbidade e mortalidade associada ao AVE, as opções de tratamento ainda permanecem restritas, onde as abordagens disponíveis são predominantemente cirúrgicas e/ou anti-trombolíticos. Em nosso estudo evidenciamos que as propriedades químicas da astaxantina a credencia como um potencial agente neuroprotetor. Apesar dos avanços, ainda se faz necessário investigações que elucidem a atuação da astaxantina na promoção e/ou reparação de eventos vasculares, para assim fortalecer a molécula como uma possível saída em potencial e de baixo custo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Kuriakose, D., & Xiao, Z. Fisiopatologia e tratamento do acidente vascular cerebral: estado atual e perspectivas futuras. **Revista Internacional de Ciências Moleculares**, v.21, n.20, p.7609-7700, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms21207609>

ROGER, V. L. et al. Heart Disease and Stroke Statistics—2011 Update. **Circulation**, v. 123, n. 4, fev. 2011.

ACADEMY, A. F. **ASTAXANTINA: EXTRAÇÃO, BIODISPONIBILIDADE, POTENCIAL BIOATIVO E APLICAÇÕES INDUSTRIAIS**. Disponível em: <<https://agronfoodacademy.com/astaxantina-extracao-biodisponibilidade-potencial-bioativo-e-aplicacoes-industriais/>>. Acesso em: 30 nov. 2023.

CHANG, M. X.; XIONG, F. Astaxanthin and its Effects in Inflammatory Responses and Inflammation-Associated Diseases: Recent Advances and Future Directions. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5342, 16 nov. 2020.

VITTURI, B. K.; GAGLIARDI, R. J. Effects of statin therapy on outcomes of ischemic stroke: a real-world experience in Brazil. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, v. 78, n. 8, p. 461–467, ago. 2020.

Han SI, et al. Astaxanthin biosynthesis promotion with pH shock in the green microalga, *Haematococcus lacustres*. **Bioresour. Technol.**, v.314, p.123725, 2020.

Ambati RR, et al. Astaxanthin: Sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications-a review. **Marine Drugs**, v.12, n.1, p.128-152, 2014.

DOMINGUEZ, H.; PEREIRA, L.; KRAAN, S. **Ingredientes Funcionais de Algas para Alimentos e Nutracêuticos** . [sl] Elsevier, 2023.

Chew W, et al. Astaxanthin decreases inflammatory biomarkers associated with cardiovascular disease in human umbilical vein endothelial cells. *Am. J. Adv. Food Sci. Technol*, v.1, p.1–17, 2013.

Zheng X, & Huang Q. Assessment of the antioxidant activities of representative optical and geometric isomers of astaxanthin against singlet oxygen in solution by a spectroscopic approach. **Food Chemistry**, v. 395, p.133584, 2022.

VITTURI, BK; GAGLIARDI, RJ Efeitos da terapia com estatinas nos desfechos do acidente vascular cerebral isquêmico: uma experiência do mundo real no Brasil. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria** , v. 78, n. 8, pág. 461–467, atrás. 2020.

ALVES, A. E. S. R. et al. Trombectomia mecânica no acidente vascular cerebral isquêmico agudo: revisão de literatura. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, v. 63, n. 2, p. 110, 7 ago. 2018.

GUZIK, A.; BUSHNELL, C. Stroke Epidemiology and Risk Factor Management. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, v. 23, n. 1, p. 15–39, fev. 2017.

ALUGOJU, P. et al. Health benefits of astaxanthin against age-related diseases of multiple organs: A comprehensive review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–66, 16 jun. 2022.