

UNIVERSIDADE FRANCISCANA
CURSO DE BIOMEDICINA

MATHEUS SCHWARK DA FONSECA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA DAIDZEÍNA E DO PÓ DE
ISOFLAVONAS IN VITRO**

SANTA MARIA - RS

2020

MATHEUS SCHWARK DA FONSECA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA DAIDZEÍNA E DO PÓ DE
ISOFLAVONAS *IN VITRO*¹**

Projeto de trabalho final de graduação (TFG) apresentado ao Curso de Biomedicina, Área de Ciências da Saúde, da Universidade Franciscana - UFN, como requisito parcial para aprovação na disciplina TFG II.

Orientador: Prof. Luis Ricardo Peroza

Santa Maria - RS

2020

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DA DAIDZEÍNA E DO PÓ DE ISOFLAVONAS IN VITRO²

IN VITRO EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DAIDZEIN AND ISOFLAVONE POWDER

Matheus Schwark Fonseca²; Luis Ricardo Peroza³

RESUMO

As isoflavonas são compostos fenólicos pertencentes a um grupo de mais de 6000 mil membros, chamado de flavonoides. Encontrados em vários alimentos, sendo principalmente encontrado na soja. A busca por compostos com atividade antioxidante é importante, pois visam reduzir ou proteger diversos tecidos contra o estresse oxidativo, o qual participa da progressão de diversas doenças neurodegenerativas. Este trabalho visa avaliar e comparar a atividade antioxidante deste pó que continha várias isoflavonas com uma isoflavonas isolada, a daidzeína. Através do teste que avalia a capacidade antioxidante total pelo método de complexação e redução do molibdênio, pode-se observar que as crescentes concentrações de isoflavonas e de daidzeína apresentaram atividade antioxidante por reduzir o molibidênio VI em molibidênio V após leitura de absorbância no espectrofotômetro. Pode-se concluir que a atividade antioxidante total equivalente do pó de isoflavonas é equivalente a da daidzeína, sendo ambos os compostos fortes candidatos ao tratamento de desordens que envolvam dano oxidativo.

Palavras-chave: Antioxidante; Radicais livres; Compostos naturais; Isoflavonas.

ABSTRACT

The isoflavones are phenolics compounds that belong to a group of more than 6000 thousand members, called flavonoids. They can be found in various foods, especially soy. The search for compounds with antioxidant activities is important, because they seek to reduce or protect various tissues against oxidative stress, which participates in the progression of several neurodegenerative diseases. This work aims to evaluate and compare the activity of the antioxidant powder from the isoflavones with a isolated isoflavone, the daidzein. Through the test that evaluates the total antioxidant capability, one can observe that the growing concentrations of isoflavones and daidzein present antioxidant activity by reducing the molybdenum IV and molybdenum V. It can be concluded that the total equivalent antioxidant activity of the isoflavones powder is equivalent to that of daidzein, with both compounds being strong candidates to the treatment of disorders involving oxidative damage.

Keywords: Antioxidant; Free Radicals; Natural compounds; Isoflavones.

² Trabalho Final de Graduação.

² Acadêmico do curso de Biomedicina – Universidade Franciscana (UFN).

³ Docente do curso de Biomedicina – Universidade Franciscana (UFN)

1. INTRODUÇÃO

O estresse oxidativo é uma condição biológica que ocorre devido um desbalanço entre as defesas antioxidantes e as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio geradas pelo metabolismo oxidativo anormal ou pela exposição a pró-oxidantes ambientais (Kohen e Nyska, 2002; Berg et al. 2004). Esta condição tem sido descrita por estar envolvida em desordens neurodegenerativas como a Doença de Parkinson, Doença de Alzheimer. (Rego e Oliveira, 2003; Halliwell, 2006), na qual as espécies reativas podem contribuir para o dano tecidual observado nessas condições (Silva e Coutinho, 2010).

A busca por compostos que possuam atividade antioxidante é importante, pois esses visam reduzir ou proteger diversos tecidos contra o estresse oxidativo. As isoflavonas são compostos fenólicos pertencentes a um grupo de mais de 6000 mil membros já identificados, chamado de flavonóides. Esse grupo é conhecido por seus benefícios à saúde, com capacidades antioxidantes, antimicrobianos e anti-inflamatórios (GARCÍA et al. 2009).

Dentre os flavonóides, as isoflavonas são encontradas comumente em vários alimentos, em leguminosas e principalmente na soja (OZIER et al., 2009). Além disso, apresentam estrutura química semelhante ao estrogênio e por isso, ligam-se a receptores de estrogênio, sendo classificados como fitoestrógenos (SARKAR et al., 2003). Deste modo, existem várias formas de aplicações terapêuticas, o uso destes fito estrógenos em modelos animais mostraram que a genisteína, uma isoflavona isolada, exerce propriedades anti-inflamatórias, modulando células do sistema imune como granulócitos, monócitos e linfócitos. (VERDRENGH et al., 2003; RODRÍGUEZ-ROQUE et al., 2013; CHACKO et al., 2007).

Um trabalho recente do nosso grupo de pesquisa mostrou o efeito das isoflavonas em inibir *in vitro* a atividade das isoformas das enzimas monoamino oxidase A e B (da SILVA-SCHMITZ et al. 2019), a qual poderia ser utilizada como tratamento adjuvante para depressão e Doença de Parkinson uma vez que desordens na atividade dessa enzima estão associadas com estas doenças neuropsiquiátricas (SUN et al. 2013).

Este trabalho visou avaliar e comparar a atividade antioxidante do pó de isoflavonas com uma isoflavonas isolada, a daidzeína. Essa comparação é importante, pois a população tem acesso e consome o pó de isoflavonas, enquanto a maioria dos estudos encontrados na literatura científica utiliza isoflavonas isoladas.

2. METODOLOGIA

2.1 COMPOSTOS UTILIZADOS

O pó de isoflavonas foi adquirido em farmácia de manipulação no município de Santa Maria – RS. O certificado da análise do pó de isoflavonas realizado pela empresa Galena Química e Farmacêutica Ltda (Campinas/SP) mostra a presença de: Glicitina (0,78%), Genistina (0,37%), Genisteína (0,21%), Daidzeína (38,81%), Daidzina (0,20%), gliciteína (0,27) – totalizando 40,64% de isoflavonas. A daidzeína, o ácido ascórbico e os demais reagentes utilizados para a realização da capacidade antioxidante total foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich.

2.2 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL

O método de complexação pelo fosfomolibdênio, descrito por Prieto et al. (1999), fundamenta-se na redução do molibdênio (VI) a molibdênio (V) ocorrida em presença de determinadas substâncias com capacidade antioxidante, sendo colocado em um tubo: água,

molibdato 4mM, H₂SO₄ 0,6M, e tampão TFNa 28mM e o grupo testado. O tubo foi aquecido à 95 °C por 90 minutos e lido no espectrofotômetro na absorvância de 695nm. As concentrações testadas, tanto para o pó de isoflavonas, quanto para a daidzeína foram: 15,62 – 31,25 – 62,5 – 125 e 250 µg/mL. Uma curva de calibração foi elaborada com ácido ascórbico (1, 5, 10, 25, 50 µg/mL) e a capacidade antioxidante total foi expressa como a média ± erro médio padrão das leituras em 695 nm.

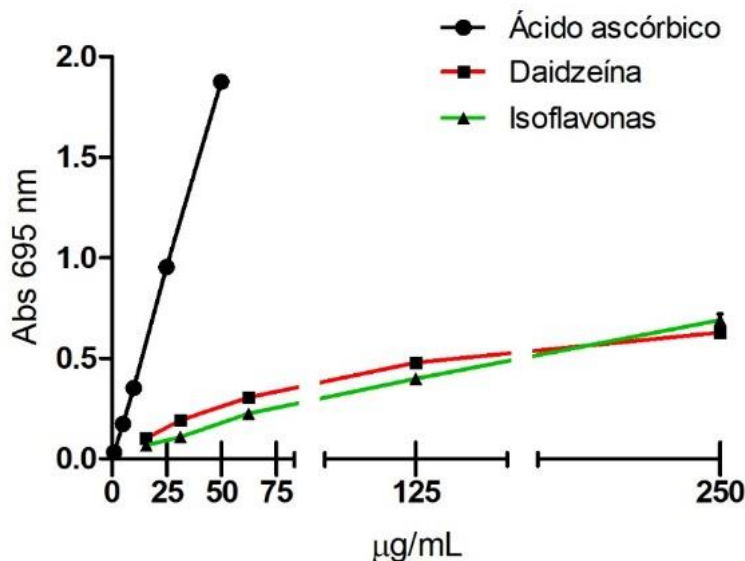
ESTATÍSTICA?

3. RESULTADOS

3.1 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT)

Através do teste que avalia a capacidade antioxidante total, pode-se observar que as crescentes concentrações de isoflavonas e de daidzeína apresentaram atividade antioxidante por reduzir o molibidênio VI em molibidênio V (Fig. 1). A concentração 250 µg/mL, tanto de isoflavonas quanto da daidzeína, tem atividade antioxidante semelhante a concentração de 20 µg/mL de ácido ascórbico, um antioxidante potente e utilizado como controle para o teste. Não foi observada qualquer diferença na capacidade antioxidante total entre as isoflavonas e a daidzeína, quando as concentrações equivalentes testadas foram comparadas.

Figura 1: Capacidade antioxidante total do pó de isoflavonas e da daidzeína.



Fonte: Construção do Autor¹

¹Valores representam a média de quadruplicata ± erro médio padrão das leituras em 695 nm.

4. DISCUSSÃO

Os produtos naturais têm sido considerados uma boa alternativa no tratamento de diversas doenças (CRAGG e NEWMAN, 2013), principalmente devido propriedades farmacológicas, baixa toxicidade e alta aceitação pela população (CLEMENT et al., 2004). Este estudo investigou a capacidade antioxidante *in vitro*, do pó de isoflavonas e da isoflavona isolada, a daidzeína.

Quando se analisa os constituintes do pó de isoflavonas, o componente majoritário é a daidzeína, que corresponde a quase 100% das isoflavonas presentes nos 40% do pó testado. Com isso, pode-se justificar a atividade antioxidante total equivalente semelhante do pó de isoflavonas com a daidzeína, que foi testada separadamente. Um estudo relaciona a propriedade antioxidante das isoflavonas ao número de grupos hidroxila presente na sua estrutura química desses compostos, podendo deste modo ao nosso resultado antioxidante (BARBOSA et al. 2006).

Pesquisas trazem resultados relevantes em relação as isoflavonas, sendo especialmente a daidzeína, comprovando seu efeito antioxidante (JAVANBAKHT et al., 2014) e anticancerígeno (CHEN et al., 2018). Nos últimos anos, várias linhas de evidências demonstraram que a genisteína pode atenuar a citotoxicidade e dano inflamatório induzido por A β 25-35 em células da micróglia BV2, assim podendo impactar futuramente nas doenças neurodegenerativas (ZHOU et al., 2014).

Acredita-se também que o efeito benéfico das isoflavonas no sistema nervoso vai também além da sua capacidade antioxidante. Um estudo realizado por Larit et al. (2018), mostraram que as isoflavonas poderiam ter um efeito antidepressivo, por aumentar os níveis de monoaminas através da inibição da MAO-A e MAO-B. Deste modo, quantos outros benefícios ainda não estudados as isoflavonas podem apresentar, e o quão acessível esses benefícios poderiam ser para a sociedade.

5. CONCLUSÃO

Com isso, pode-se concluir que a capacidade antioxidante total equivalente do pó de isoflavonas é equivalente a da daidzeína, sendo o pó de isoflavonas, uma ótima alternativa de tratamento adjuvante as desordens que envolvem o dano oxidativo, visto que está forma é comercializada e disponível para a população. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar o efeito antioxidante desses compostos *in vivo*.

6. REFERÊNCIAS

BARBOSA, Ana Cristina Lopes et al. Teores de isoflavonas e capacidade antioxidante da soja e produtos derivados. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 921-926, dez. 2006.

Berg D, Youdim MB, Riederer P. Redox imbalance. **Cell Tissue Res** 318: 201–13, 2004.

CHACKO, Balu K. et al. Anti-Inflammatory Effects of Isoflavones are Dependent on Flow and Human Endothelial Cell PPAR γ . **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 2, p. 351–356, 2007.

CHEN, Chung-Yi; KAO, Chiu-Li; LIU, Chi-Ming, The Cancer Prevention, Anti-Inflammatory and Anti-Oxidation of Bioactive Phytochemicals Targeting the TLR4 Signaling Pathway. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 9, 2018.

CLEMENT, Jason; YODER, Brent; KINGSTON, David. Produtos naturais como fonte de agentes ativos no SNC. **Mini-Reviews em Organic Chemistry**, v. 1, n. 2, p. 183-208, 2004.

CRAGG, Gordon M.; NEWMAN, David J. Natural products: a continuing source of novel drug leads. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1830, n. 6, p. 3670-3695, 2013.

Da Silva Schmitz I, Schaffer LF, Busanello A, de Freitas CM, Fachinetto R, Peroza LR. Isoflavones prevent oxidative stress and inhibit the activity of the enzyme monoamine oxidase in vitro. **Mol Biol Rep**, 2019.

GARCÍA-LAFUENTE, Ana et al, Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease, **Inflammation Research**, v. 58, n. 9, p. 537–552, 2009.

JAVANBAKHT, Mohammad H. et al. Soy protein and genistein improves renal antioxidant status in experimental nephrotic syndrome. **Nefrologia: Publicacion Oficial De La Sociedad Espanola Nefrologia**, v. 34, n. 4, p. 483–490, 2014.

Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. **Toxicol Pathol**, 30: 620–50, 2002.

LARIT, Farida et al, Inhibition of human monoamine oxidase A and B by flavonoids isolated from two Algerian medicinal plants. **Phytomedicine**, v. 40, p. 27–36, 2018.

OZIER, Alan; JAGANATH, Indu B.; CLIFFORD, Michael N., Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health, **Natural Product Reports**, v. 26, n. 8, p. 1001, 2009.

Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Anal Biochem**. 1999; 269: 337-41.

Rego AC, Oliveira CR. Mitochondrial dysfunction and reactive oxygen species in excitotoxicity and apoptosis: implications for the pathogenesis of neurodegenerative diseases. **Neurochem Res**, 28: 1563–1574, 2003.

RODRÍGUEZ-ROQUE, María Janeth et al. Soymilk phenolic compounds, isoflavones and antioxidant activity as affected by in vitro gastrointestinal digestion. **Food Chemistry**, v. 136, n. 1, p. 206–212, 2013.

SARKAR, Fazlul H.; LI, Yiwei, Soy Isoflavones and Cancer Prevention: clinical science review. **Cancer Investigation**, v. 21, n. 5, p. 744–757, 2003.

Silva JP, Coutinho OP, Free radicals in the regulation of damage and cell death—basic mechanisms and prevention. **Drug Discov Ther** 4: 144–167, 2003.

Sun Y, Chen J, Chen X, Huang L, Li X. Inhibition of cholinesterase and monoamine oxidase-B activity by tacrine homoisoflavonoid hybrids. **Bioorg Med Chem** 21:7406–7417, 2013.

VERDRENGH, M. et al, Genistein as an anti-inflammatory agent, **Inflammation Research**, v. 52, n. 8, p. 341–346, 2003.

ZHOU, Xin et al. Genistein antagonizes inflammatory damage induced by β -amyloid peptide in microglia through TLR4 and NF- κ B. **Nutrition**, v. 30, n. 1, p. 90–95, 2014.