

Avaliação preliminar de isoflavonas presentes em plantas de trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.) por CLAE visando micropropagação *in vitro*.

Diego Tonello²; José Angelo Silveira Zuanazzi¹

1- Profº Orientador e Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1D - CA FR – Farmácia.
2-Bolsista de Iniciação Científica

Laboratório de Farmacognosia, Faculdade de Farmácia Av. Ipiranga 2752- Azenha, Porto Alegre –RS 90610-000

INTRODUÇÃO

O trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.) é uma importante leguminosa bienal, perene, de curta duração e de grande importância nos países de produção pecuária por ser nutritivo e melhorar a qualidade das pastagens¹.

Nos últimos anos, vêm sendo estudado devido ao fato de apresentar antioxidantes, que são utilizados na proteção contra o câncer de mama e alívio nos sintomas da menopausa e perda óssea, tendo entrado para a Relação Nacional de Plantas de Interesse para o SUS (RENISUS) em março de 2009².

As principais Moléculas responsáveis por esses efeitos são as isoflavonas, tais como:

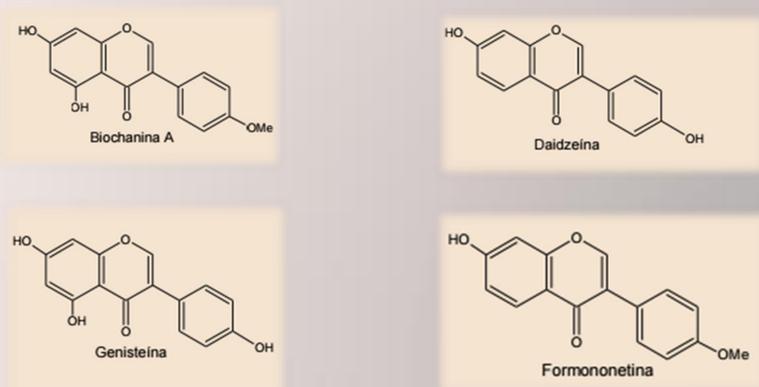


Figura 1: Forma Molecular Das isoflavonas de interesse.

OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi realizar a identificação inicial das isoflavonas presentes em plantas de *Trifolium pratense* L, por meio de análise em cromatografia líquida de alta eficiência, após hidrólise ácida, sendo esta etapa de fundamental importância para a continuação do experimento.

MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal foi cultivado em campo e após a coleta foi seco em estufa, a aproximadamente 40°C e, posteriormente triturado. Pesou-se 10 mg das partes aéreas em balança analítica, nas quais foram adicionados 4 ml de ácido clorídrico 6 M, em banho-maria e com agitação magnética, por 15 min.

Após a solução esfriar, realizou-se a filtração, o filtrado foi extraído com 15 ml de diclorometano (3 x 15 mL, em triplicata). O solvente orgânico foi evaporado em rotaevaporador (40°C) e o resíduo ressuspensionado em 2 ml de metanol. Após filtração em membrana filtrante hidrofóbica (Millipore; 0,45µm, 13mm) foi analisado em CLAE (RAMOS, 2010 com modificações).

Ao final do processo de extração as amostras obtidas foram analisadas por um método de HPLC já validado para quantificação das isoflavonas, comparadas frente a um padrão.



Figura 2: Processo de Extração das Isoflavonas.

RESULTADOS

Devido ao crescente interesse pelos compostos flavonoides, os quais possuem diversas propriedades terapêuticas várias plantas tem se tornado objeto de pesquisa dentre elas o *Trifolium pratense* L. São leguminosas que possuem um importante interesse agrícola, além de possuírem os seguintes compostos tais como, formononetina, biochanina A daidzeína e genisteína, sendo esta duas últimas encontradas em menor quantidade.

O processo de extração inicial tornou-se necessário para quantificar a presença destes compostos nas amostras obtidas comparando-as com um padrão afim de provar a viabilidade de continuação do projeto. Os resultados podem ser observados nas imagens abaixo.

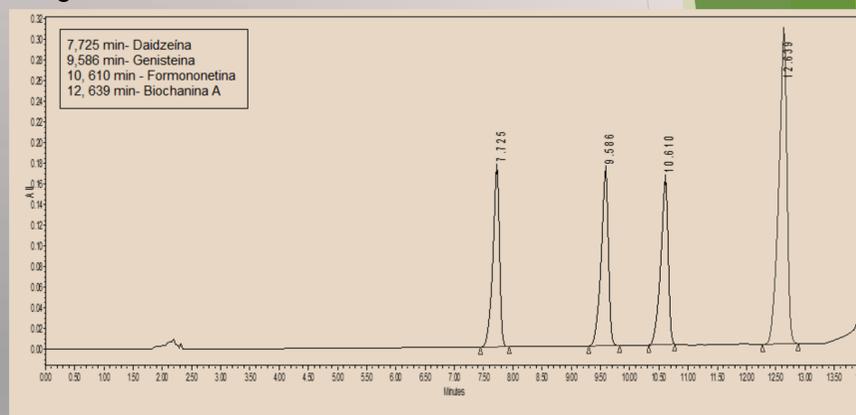


Figura 3: Cromatograma de uma solução dos padrões das isoflavonas.

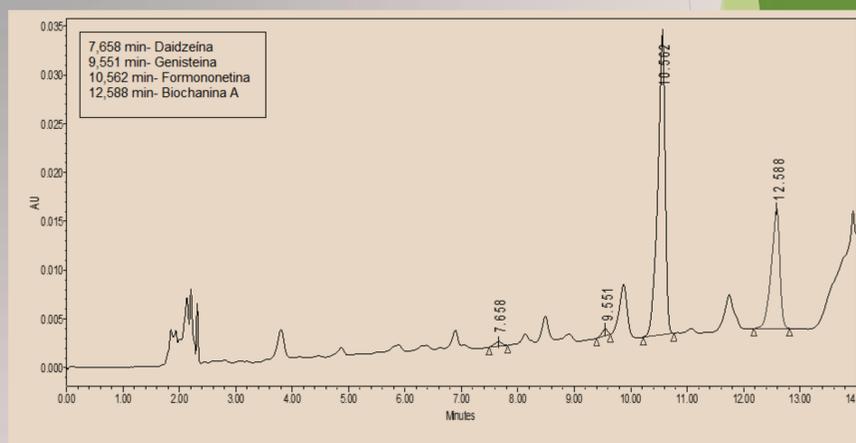


Figura 4: Cromatograma Das Amostras Obrtidas demonstrando os picos das isoflavonas de interesse.

Como resultados foram identificados os compostos já citados anteriormente, assim como o tempo de retenção de cada uma das amostras frente ao padrão, confirmando a presença destes compostos flavonoides nas amostras analisadas. Podendo assim dar continuação ao projeto visando a micropropagação *in vitro* da planta como pode-se observar na imagem abaixo.

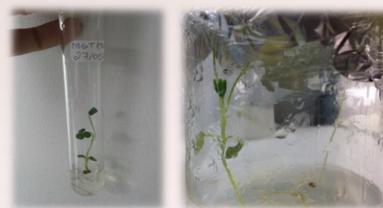


Figura 5: Micro propagação *in vitro* do *Trifolium pratense* L.

Referências

1 RAMOS. P. G. **Estudo Químico de Diferentes Acessos de Trevo-Vermelho (*Trifolium pratense* L.) e Atividades Biológicas.** Porto Alegre. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul / UFRGS, 2010. Tese (Doutorado).

2 MINISTÉRIO DA SAÚDE. **RELAÇÃO INTERNACIONAL DE PLANTAS MEDICINAIS DE INTERESSE AO SUS, ESPÉCIES VEGETAIS.2009.** Disponível em: <http://bvmsms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf>. Acesso em 22.07.2015