

# Isolamento e Quantificação de 5',7-dihidróxi-4',6- dimetóxi-isoflavona por CLAE em culturas de células em suspensão de *Dipteryx odorata*

Renata S. Fernandes (PG)\*, José Franciraldo de Lima (TC), Miriam V. Lourenço (PQ), Mozart A. Marins (PQ), Suzelei de Castro França (PQ), Ana Helena Januário (PQ)

Renatarsf@yahoo.com.br

Universidade de Ribeirão Preto. Unidade de Biotecnologia.

Palavras Chave: *Dipteryx odorata*, CLAE, 5',7-dihidróxi -4',6-dimetóxi -isoflavona

## Introdução

*Dipteryx odorata* (Fabaceae) é conhecida popularmente na região amazônica pelo nome "cumaru"<sup>1</sup>.

Dados da literatura relatam a presença de isoflavonas nas cascas dos caules desta espécie.

Os isoflavonóides têm adquirido considerável importância por exibirem diversas atividades biológicas: antioxidante, antifúngica, antibactericida, antiinflamatória, estrogênica e contraceptiva.

O objetivo deste trabalho foi determinar o teor de 5',7-dihidróxi-4',6-dimetóxi-isoflavona (2) presente em cultura de células em suspensão de *D. odorata* por CLAE em um período de 30 dias.

## Materiais e Métodos

Plântulas cultivadas de *D. odorata* cultivadas *in vitro* foram seccionadas e inoculadas em meio de cultura MS suplementado com 2,0 mg/L de 2,4-D + 0,5 mg/L de 6-BAP + 340 mg/L de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 30 g/L de sacarose e 2,0 g/L de Phytigel® para a indução de calos. Calos obtidos foram subcultivados em intervalos de 30 dias. Por sua vez, as suspensões celulares foram obtidas através da transferência dos calos em meio semi-sólido para meio líquido.

As culturas de células em suspensão de *D. odorata* foram liofilizadas, trituradas e submetidas a processos de extração com CHCl<sub>3</sub> e MeOH em triplicata.

Os extratos metanólicos obtidos foram submetidos à análise em um cromatógrafo Shimadzu com detector de arranjo de diiodo (modelo SPD-M10A *vp*) e injetor automático modelo (SIL-10AD *vp*), com volume de injeção à 20µL; coluna Supelcosil™ LC18 (4,6 x 250 mm, Supelco®), partícula 5 µm; sendo o sistema eluente, um gradiente de MeOH/H<sub>2</sub>O (0,1% ácido acético) 50% → 100% (20 min), 100% → 50% (26min), 50% (35min) com fluxo de 0,9 mL/min e detecção no UV à 254nm.

O extrato clorofórmico das células em suspensão foi submetido a fracionamentos cromatográficos em sílica flash (230 – 400 Mesh; Sigma - Aldrich), empregando-se o gradiente

CHCl<sub>3</sub>/MeOH 99,5:0,5 ? 9:1 e MeOH, para o isolamento da isoflavona 2, que na análise quantitativa foi utilizada como padrão externo, construindo-se uma curva de calibração de quatro pontos, apresentando-se linear no intervalo de 0,001 – 0,1 mg/mL e coeficiente de correlação 0,999.

## Resultados e Discussão

Os cromatogramas obtidos para o extrato metanólico avaliados evidenciaram um pico com  $t_R = 12,54$  min referente à isoflavona 2, cujo espectro na região do ultravioleta associado a este pico apresentaram máximos de absorção à 258 e 319 nm característico de isoflavonóides. Os resultados das análises quantitativas por CLAE revelaram que as culturas apresentam uma maior produção da isoflavona avaliada no 30º dia (4,952 ± 1,331 mg/g PS) e no 15º dia (3,060 ± 0,819 mg/g PS).

## Conclusões

Culturas de células em suspensão podem ser consideradas fonte atrativa para a produção de isoflavonóides de interesse farmacológico. Em estudo paralelo a isoflavona 2 foi avaliada quanto à atividade antioxidante frente ao radical estável DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil), apresentando uma porcentagem de inibição de 59,54% ± 2,69<sup>2</sup>.

A CLAE se mostrou uma técnica adequada e útil no controle de qualidade químico do extrato das culturas avaliadas. Apresentando como vantagem sua rapidez e acurácia<sup>3</sup>.

## Agradecimentos

UNAERP, CAPES.

<sup>1</sup> ANDRADE, E.A.H.; ZOGHBI, M.G.B.; CARREIRA, L.M.M. *Journal of Essential Oil Research*, **2003**, *15*, 211.

<sup>2</sup> FERNANDES, R. S.; LOURENÇO, M. V.; FRANÇA S. C.; PIETRO, R. C.L.R.; ROBERTO, P. G.; LIMA, J. F.; PEREIRA, S. I. V.; JANUÁRIO, A.H. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2005**, *41*(1), 365.

<sup>3</sup> CASS, Q. B.; DEGANI, A. L. G. Desenvolvimento de Métodos por HPLC: Fundamentos, estratégias e Validação. São Paulo: EdUFSCar, **2001**.

