

Trifolium pratense L.**IDENTIFICAÇÃO****Família**Leguminosae.⁽¹⁾**Nomenclatura popular**Trevo-vermelho.^(2,3)**Parte utilizada/órgão vegetal**Inflorescências secas.⁽⁴⁾**INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS**Alívio dos sintomas da menopausa (principalmente fogachos), mastalgia e síndrome pré-menstrual.⁽⁵⁻¹¹⁾**CONTRAINDICAÇÕES**Produtos a base da inflorescência de *Trifolium pratense* são contraindicados em casos de hipersensibilidade ou alergia a droga vegetal ou a espécie *in natura*. Está também contraindicado durante a gravidez, na amamentação e para crianças menores de 12 anos, e em casos de doenças hormonais associadas, ao efeito potencial dos hormônios.⁽⁴⁾**PRECAUÇÕES DE USO**Deverão ser observadas as condições que podem ser agravadas pelo aumento do nível de estrogênio, como a endometriose ou miomas uterinos.⁽¹¹⁾**EFEITOS ADVERSOS**A ingestão de grandes quantidades de *T. pratense* em alimentos por animais tem sido associada a um número de efeitos adversos em ovelhas na Austrália. A “doença do trevo” caracterizada por sintomas de infertilidade, lactação anormal, distocia e prolapso uterino, foram hipoteticamente atribuídos aos efeitos estrogênicos de isoflavonas.⁽¹²⁾ Em nenhum dos ensaios clínicos controlados observou-se efeitos adversos com doses de até 0,160 g de isoflavonas por dia.^(13,14)**INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS**

Alguns estudos possibilitam imaginar que as isoflavonas específicas podem aumentar a capacidade do tamoxifeno de inibir o crescimento de células

de câncer de mama estrogênico-receptor positivo.⁽¹⁵⁻¹⁷⁾ Em modelos de roedores, a genisteína tem inibido a eficácia do tamoxifeno sobre o crescimento de células de câncer de mama hormônio-receptor positivo em ratas ovariectomizadas, enquanto que em outros estudos verificaram que isoflavonas específicas podem produzir efeito aditivo e sinérgico na prevenção do desenvolvimento de tumores induzidos quimicamente e o crescimento de tumores existentes. Portanto, o uso da droga bruta ou suas preparações não é recomendado em pacientes que estão sendo tratadas com tamoxifeno e outros medicamentos anti-estrogênicos.⁽¹⁸⁻²⁰⁾As isoflavonas presentes nos extratos de *T. pratense* são inibidoras das enzimas hepáticas CYP 1A1, CYP 1B1 e CYP 2C9 o que pode levar ao aumento dos níveis séricos de alguns fármacos.⁽²¹⁾ Podem interagir potencialmente com anticoagulantes (heparina e varfarina) e antiagregantes plaquetários (aspirina, clopidogrel e ticlopidina), por isso recomenda-se cautela na utilização de *T. pratense* em pacientes susceptíveis a sangramentos ou com distúrbios de coagulação.^(21,22)**FORMAS FARMACÊUTICAS**Cápsulas e comprimidos contendo extrato bruto padronizado (0,5% de isoflavonas). Extrato bruto padronizado não menos que 0,5% de isoflavonas (daidzeína, genisteína, formononetina e biochanina A).⁽¹⁾**VIAS DE ADMINISTRAÇÃO E POSOLOGIA (DOSE E INTERVALO)**Oral. Extrato bruto: 240-480 mg correspondendo a 40-80 mg/dia de isoflavonas.⁽⁴⁾**TEMPO DE UTILIZAÇÃO**Extrato padronizado de *T. pratense* pode ser utilizado com segurança em administração diária por 12 meses.⁽²³⁾**SUPERDOSAGEM**

Não foram encontrados dados descritos na literatura consultada sobre problemas decorrentes de superdosagem. Em caso de ingestão de quantidades acima das recomendadas o paciente deve ser observado

PRESCRIÇÃO

Fitoterápico, somente sob prescrição médica.

PRINCIPAIS CLASSES QUÍMICAS

Isoflavonas (biochanina A, daidzeína, formononetina e genisteína).⁽²⁴⁻²⁷⁾

INFORMAÇÕES SOBRE SEGURANÇA E EFICÁCIA

Ensaio não-clínicos

Farmacológicos

Estudo *in vitro* com extrato metanólico (15% de isoflavonas) das inflorescências de *T. pratense* L. possibilitou verificar ligação competitiva significativa para os receptores alfa-estrogênico e beta-estrogênico. Em Ishikawa (células de câncer endometrial), o extrato também exibiu atividade estrogênica, por indução da atividade da fosfatase alcalina e regulação positiva do mRNA do receptor de progesterona. Em células de câncer de mama S30, presenelina-2, outro gene induzível de estrogênio, foi regulado positivamente na presença do extrato. Utilizando bioensaio guiado com receptor de estrógeno isolado, e tendo a ligação competitiva como meio de monitoramento, usando como screening cromatografia líquida por ultrafiltração e espectrometria de massa, revelou que genisteína foi o componente mais ativo do *T. pratense*, e a mais efetiva das quatro isoflavonas testadas nos ensaios *in vitro* acima descritos.⁽²⁸⁾

O extrato bruto (15% de isoflavonas totais) da droga vegetal, causou ação sobre os receptores alfa e beta-estrogênicos com concentração inibitória média, de 1,8 e 2 g/mL, respectivamente. O extrato ativou a resposta estrogênica em células de Ishikawa e induziu a expressão de luciferase em células MCF-7.⁽²⁹⁾

Estudo *in vivo* avaliou os efeitos estrogênicos da droga bruta em ratas ovariectomizadas.⁽²⁹⁾ O extrato das inflorescências de *T. pratense*, padronizado em 15% de isoflavonas em ratas virgens ovariectomizadas, produziu efeito estrogênico, incluindo aumento do peso uterino, diferenciação das células vaginais e não estimulou a proliferação de células das glândulas mamárias. Nenhuma propriedade anti-estrogênica ou estrogênica aditiva foi observada nos tecidos dos órgãos estudados. Esses dados possibilitam concluir que o extrato é fracamente estrogênico em ratas ovariectomizadas.⁽³⁰⁾

Os efeitos das isoflavonas de *T. pratense* foram estudados sobre a secreção de hormônios da tireóide, bem como sobre a imunoreatividade ao receptor alfa-estrogênico nas glândulas da tireóide de ovelhas ovariectomizadas. As ovelhas expostas à silagem com trevo-vermelho apresentaram concentrações plasmáticas significativamente mais elevadas de T3 total e T3 livre do que as ovelhas alimentadas com feno. A área da secção transversal dos folículos da

tireóide tendeu a ser maior em ovelhas alimentadas com silagem com trevo-vermelho do que nos animais de controle. A imunoreatividade ao receptor alfa-estrogênico foi mais forte nas glândulas da tireóide das ovelhas expostas ao fitoestrógeno do que nas ovelhas alimentadas com feno. A ingestão diária de 81-95 mg/kg de peso corporal do fitoestrógeno por 14 dias estimulou a secreção de hormônios da tireóide e tendeu a aumentar o tamanho do folículo e receptor alfa-estrogênico e a imunoreatividade da glândula tireoide.⁽³¹⁾

Toxicológicos

Não foram encontrados dados descritos na literatura consultada.

Ensaio clínicos

Farmacológicos

Vários estudos foram realizados utilizando extrato padronizado ou isoflavonas isoladas das inflorescências de *T. pratense* para o tratamento de fogachos e outras manifestações clínicas presentes na pré-menopausa, menopausa ou pós-menopausa.⁽³²⁻³⁵⁾ Estudo duplo-cego, randomizado, placebo controlado avaliou a eficácia de um produto a base do extrato de *T. pratense* em 30 mulheres em pós-menopausa. As mulheres foram tratadas com 40 mg do extrato ou placebo durante quatro meses.^(36,37) Observou-se a diminuição de 75% do fogacho no grupo tratado em comparação com o grupo placebo. Outro estudo aberto com 23 mulheres amenorreicas por 12 meses,⁽³⁸⁾ relatou-se que as pacientes tratadas com 40 mg do extrato de *T. pratense*, apresentaram redução de 56% na frequência do fogacho durante um período de 2 meses. A gravidade dos fogachos diminuiu em 43% e a gravidade da sudorese noturna diminuiu em 52%. Não foram observadas alterações na espessura endometrial e efeitos adversos. Os hemogramas completos estavam todos nos limites de normalidade.⁽³²⁾

Toxicológicos

Nos ensaios clínicos controlados não foram observados efeitos tóxico-colaterais com o emprego de doses até 160 mg de isoflavonas por dia. Ressalta-se que *Trifolium pratense* não contém cumarinas, portanto, os relatos em relação à coagulação sanguínea não estão relacionados a essa espécie vegetal.^(39,40)

REFERÊNCIAS

- (1) **TROPICOS**. Disponível em: <<http://www.tropicos.org/NameSearch.aspx?name=Trifolium+pratense&commonname=>>>. Acessado em: 06 maio 2016.
- (2) SABUDAK, T.; GULER, N. *Trifolium* L. - A review on its phytochemical and pharmacological profile. **Phytother Res.**, v. 23, p. 439–446, 2009.
- (3) D'IPPOLITO, J.A.C.; ROCHA, L.M.; SILVA, R.F. **Fitorerapia Magistral** – Um guia prático para a manipulação de fitoterápicos. 1. ed. São Paulo: Anfarmag, 2005. 194p.
- (4) WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO monographs on selected medicinal plants**. Geneva, Switzerland: World Health Organization, v. 4, p. 335-352, 2009.
- (5) IFTODA, D. M.; OLIVEIRA, F. K.; UTSUNOMIYA, H. K.; MORIYA, M.; UETUKI, M. A.; BRAGGION, A.; LOPES, L. C. *Cimicifuga racemosa* L., *Trifolium pratense* L. e *Vitex agnus-castus* L.: a correspondência das indicações contida nas bulas dos fitoterápicos e o respaldo científico. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 27, n. 2, p.169-176, 2006.
- (6) NISSAN, H. P.; LU, J.; BOOTH, N. L.; YAMAMURA, H. I.; FARNSWORTH, N. R.; WANG, Z. J. A red clover (*Trifolium pratense*) phase II clinical extract possesses opiate activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p. 207–210, 2007.
- (7) BRENDLER, T.; GRUENWALD, J.; JAENICKE, C. **PDR® for herbal medicines**. 4th ed. Montvale (NJ): Thomson Healthcare Inc, 2007.
- (8) CHEDRAUI, P. A.; HIDALGO, L. A.; MOROCHO, N.; ROSS, S.; SAN MIGUEL, G. The effect of red clover isoflavones on menopausal symptoms, lipids and vaginal cytology in menopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Gynecol Endocrinol**, v. 21, n. 5, p. 257-264, 2005.
- (9) BAXTER, K.; DRIVER, S.; WILLIAMSON, E. **Stockley's herbal medicines interactions**. London: Pharmaceutical Press, p. 332-333, 2009.
- (10) COON, J. T.; ERNST, E.; PITTLER, M. H. *Trifolium pratense* isoflavones in the treatment of menopausal hot flushes: a systematic review and meta-analysis. **Phytotherapy**, v. 14, n. 2-3, p. 153-159, 2007.
- (11) BRAUN, L.; COHEN, M. *Herbs & natural supplements: an evidence-based guide*. 2nd ed. Marrickville (NSW): Debbie Lee, 2007.
- (12) LEWIS, R. A. (Ed.). *Lewis' Dictionary of Toxicology*. Boca Raton, FL: Lewis Publishers/CRC Press, 1998.
- (13) PIERSEN, C. E. *et al.* Chemical and biological characterization and clinical evaluation of botanical dietary supplements: A phase I red clover extract as a model. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 1361–1374, 2004.
- (14) BOOTH, N. *et al.* Confusion regarding anticoagulant coumarins in dietary supplements. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, p. 511–516, 2004.
- (15) JONES, J. L. *et al.* Genistein inhibits tamoxifen effects on cell proliferation and cell cycle arrest in T47D breast cancer cells. **American Surgery**, v. 68, p. 575–577, 2002.
- (16) HAN, D.; TACHIBANA, H.; YAMADA, K. Inhibition of environmental estrogen-induced proliferation of human breast carcinoma MCF-7 cells by flavonoids. **In Vitro Cell Development and Biology**, v. 37, p. 275–282, 2001.
- (17) TANOS, V. *et al.* Synergistic inhibitory effects of genistein and tamoxifen on human dysplastic and malignant epithelial breast cells *in vitro*. **European Journal of Obstetrics and Gynecology Reproduction Biology**, v. 37, p. 188–194, 2002.
- (18) JU, Y. H. *et al.* Dietary genistein negates the inhibitory effect of tamoxifen on growth of estrogen-dependent human breast cancer (MCF-7) cells implanted in athymic mice. **Cancer Research**, v. 62, p. 2474–2477, 2002.
- (19) CONSTANTINOU, A. *et al.* Consumption of soy products may enhance the breast cancer preventive effects of tamoxifen. **Proceedings of the American Association of Cancer Research**, v. 42, p. 826, 2001.
- (20) GOTOH, T. *et al.* Chemoprevention of N-nitroso-N-methylurea-induced rat mammary cancer by miso and tamoxifen, alone and in combination. **Japanese Journal of Cancer Research**, v. 89, p. 487–495, 1998.
- (21) ROBERTS, H. Safety of herbal medicinal products in women with breast cancer. **Maturitas**, v. 66, n. 4, p. 363-369, 2010.
- (22) WEISMILLER, D. G. **Menopause. Primary Care - Clinics in Office Practice**, v. 36, n. 1, p. 199-226, 2009.
- (23) GELLER, S. E.; SHULMAN, L. P.; BREEMEN, R. B.; BANUVAR, S.; SHOU, Y.; EPSTEIN, G.; HEDAYAT, S.; NIKOLIC, D.; KRAUSE, E. C.; PIERSEN, C. E.; BOLTON, J. L.; PAULI, G. F.; FARNSWORTH, N. R. Safety and efficacy of Black cohosh and red clover for the management of vasomotor symptoms: A randomi-

- zed controlled Trial. **Menopause**, v. 16, n. 6, p. 1156–1166, 2009.
- (24) FARNSWORTH, N. R. (Ed). **NAPRALERT database**. Chicago: University of Illinois at Chicago, IL (an online database available directly through the University of Illinois at Chicago or through the Scientific and Technical Network [STN] of Chemical Abstracts Services). Disponível em: www.napralert.org. Acesso em: 23/02/2015.
- (25). LIN, L.Z. *et al.* LC-ESI-MS study of the flavonoid glycoside malonates of red clover (*Trifolium pratense*). **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 48, p. 354–365, 2000.
- (26) HE, X. G.; LIN, L. Z.; LIAN, L. Z. Analysis of flavonoids from red clover by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. **Journal of Chromatography – A**, v. 755, p. 127–132, 1996.
- (27) NAMS – North American **Menopause** Society. The role of isoflavones in menopausal health: consensus opinion of the North American **Menopause** Society. **Menopause**, v. 7, p. 215–229, 2000.
- (28) LIU, J. *et al.* Evaluation of estrogenic activity of plant extracts for the potential treatment of menopausal symptoms. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 49, p. 2472–2479, 2000.
- (29) OVERK, C. R. *et al.* Comparison of the *in vitro* estrogenic activities of compounds from hops (*Humulus lupulus*) and red clover (*Trifolium pratense*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, p. 6246–6253, 2005.
- (30) BURDETTE, J. E. *et al.* *Trifolium pratense* (red clover) exhibits estrogenic effects *in vivo* in ovariectomized Sprague-Dawley rats. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 27–30, 2002.
- (31) MADEJ, A. *et al.* Thyroid gland function in ovariectomized ewes exposed to phytoestrogens. **Journal of Chromatography B Analytical and Technological Biomedical Life Sciences**, v. 777, p. 281–287, 2002.
- (32) BABER, R. J. *et al.* Randomized placebo-controlled trial of an isoflavone supplement and menopausal symptoms in women. **Climacteric**, v. 2, p. 85–92, 1999.
- (33) VAN D. E. WEIJER, P.; BARENTSEN, R. Isoflavones from red clover (Promensil) significantly reduce menopausal hot flush symptoms compared with placebo. **Maturitas**, v. 42, p. 187–200, 2002.
- (34) TICE, J. A. *et al.* Phytoestrogen supplements: for the treatment of hot flashes: the isoflavone clover extract (ICE) study. **Journal of the American Medical Association**, v. 290, p. 207–214, 2003.
- (35) KNIGHT, D. C.; HOWES, J. B.; EDEN, J. A. The effect of Promensil, an isoflavone extract, on menopausal symptoms. **Climacteric**, v. 2, p. 79–84, 1999.
- (36) FUGH-BERMAN, A.; KRONENBERG, F. Red clover (*Trifolium pratense*) for menopausal women: current state of knowledge. **Menopause**, v. 8, p. 333–337, 2001.
- (37) JERI, A. R.; DE ROMANA, C. The effect of isoflavone phytoestrogens in relieving hot flushes in Peruvian postmenopausal women (abstract). In: **The Proceedings of the 9th International Menopause Society World Congress on the Menopause**. Yokohama, Japan, 129, 1999.
- (38) NACHTIGALL, L. B. *et al.* The effects of isoflavones derived from red clover on vasomotor symptoms and endometrial thickness (abstract). In: **The Proceedings of the 9th International Menopause Society World Congress on the Menopause**. Yokohama, Japan, 128, 1999.
- (39) PIERSEN, C. E. *et al.* Chemical and biological characterization and clinical evaluation of botanical dietary supplements: A phase I red clover extract as a model. **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 1361–1374, 2004.
- (40) BOOTH, N. *et al.* Confusion regarding anticoagulant coumarins in dietary supplements. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 76, p. 511–516, 2004.