



## POTENCIAL FITOTÓXICO DO EXTRATO FRACIONADO DE FOLHAS DE *Drimys brasiliensis* MIERS

Simoni Anese;

Patricia Umeda Grisi; Maria Augusta Ferraz Machado Miranda; Lafayette Pereira Candido; Luciana de Jesus Jatobá; Sonia Cristina Juliano Gualtieri; Roberto Gomes Souza Berlinck.

### INTRODUÇÃO

A Alelopatia envolve a interação biológica de plantas e microrganismos, tanto em ambientes naturais quanto em sistemas agrícolas, devido à liberação no ambiente de compostos provenientes do metabolismo secundário de plantas. Alguns destes compostos podem apresentar atividades biológicas com potencial de uso na indústria agroquímica, agindo de forma diferente em relação aos pesticidas sintéticos e abrindo novas possibilidades, principalmente no controle de espécies de plantas daninhas resistentes a estes produtos (Vyvyan, 2002). Na busca de novas fitotoxinas naturais alguns métodos podem ser usados para pesquisar os novos compostos, tais como o isolamento biodirigido, que consiste em realizar bioensaios em cada uma das etapas de isolamento, determinando a (s) fração (ões) testada (s) que apresenta (m) maior atividade biológica. A fração mais ativa é fracionada novamente até a purificação e identificação dos compostos aí presentes, responsáveis pela atividade detectada (Macías *et al.*, 2000). *Drimys brasiliensis* Miers, pertencente à família Winteraceae, é encontrada na Mata Atlântica, desde o sul da Bahia até o Rio Grande do Sul, ocorrendo também ao longo de florestas de galerias do domínio Cerrado. Os sesquiterpenos do grupo dos drimanos foram considerados os principais compostos químicos isolados da planta (Malheiros *et al.*, 2005) e estudos anteriores revelaram seu potencial fungicida (Malheiros *et al.*, 2005). No entanto, não existem trabalhos que relatam o potencial fitotóxico da espécie sobre outras plantas.

### OBJETIVOS

Avaliar, por meio do isolamento biodirigido, a atividade fitotóxica de diferentes frações obtidas do extrato hexânico de folhas de *D. brasiliensis* sobre o crescimento de coleóptilos de trigo.

### MATERIAL E MÉTODOS

As folhas de *D. brasiliensis* foram coletadas no município de São Carlos, SP, em setembro de 2010. Após a secagem e trituração, 100 g do pó das folhas foi submetido à extração exaustiva em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH (1:1). O extrato bruto resultante foi concentrado, suspenso em MeOH 95% e particionado com n-hexano, resultando nos extratos metanólico e hexânico. Parte do extrato hexânico (10 g) foi submetido a uma separação por cromatografia em fase normal em coluna, tendo como fase estacionária sílica gel (70-230 mesh), eluída com n-hexano com quantidades crescentes de acetato de etila. Após análise e reunião baseadas em CCD, foram obtidas sete frações (A-G) e, estas tiveram sua atividade fitotóxica avaliada em bioensaio com fragmentos de coleóptilos de trigo. A fração mais ativa foi fracionada em coluna pré-empacotada de sílica gel (10g, Phenomenex Strata), eluída em gradiente de hexano:acetona (9:1, 8:2, 7:3, 6:4 e 1:1), 100% de acetona, acetona: metanol (1:1) e metanol 100%. Após análise e reunião e CDD, 6 sub-frações foram obtidas (D1-6) e testadas em coleóptilos. Para este bioensaio, 10 mg de cada uma das frações foram pré-dissolvidas em DMSO (5µL/mL) e diluídas em solução tampão (fosfato-citrato, contendo 2% de sacarose e pH = 5,6) para obter as concentrações de 800, 400 e 200 ppm. Também foram

realizados um controle com solução tampão e DMSO (5 µL/mL) e um controle com herbicida GOAL, nas mesmas concentrações que as frações. Para cada tratamento foram realizadas três réplicas em tubos de ensaio, onde foram acondicionados 2 mL de cada solução testada e cinco fragmentos de 4 mm de coleóptilos de trigo. Os tubos de ensaio foram acondicionados em estufa B.O.D. sob rotação constante (0,25 rpm) durante 24 h. Ao final, os coleóptilos foram fotografados e medidos. Os dados foram avaliados como porcentagem de inibição ou estímulo do crescimento, em relação ao controle, e submetidos ao teste de Dunnet a  $\alpha = 0,05$ .

## RESULTADOS

As frações resultantes da primeira separação cromatográfica (A-G), com exceção da fração A, apresentaram efeito inibitório significativo sobre o crescimento dos coleóptilos, com efeitos similares ao do herbicida comercial. No entanto, as frações que apresentaram maior nível de atividade, mesmo nas menores concentrações, foram a B, C e D, com percentual de inibição na concentração de 800 ppm de 87, 76 e 93%, respectivamente, em relação ao controle. Devido ao maior potencial de inibição, a fração D foi selecionada para um novo fracionamento cromatográfico. Das 6 sub-frações obtidas (D1-D6), a sub-fração D1 foi a que proporcionou o maior nível de atividade sobre o crescimento dos coleóptilos, com percentual de inibição de 98%, em relação ao controle, na concentração de 800 ppm. Este valor foi superior ao observado para o herbicida comercial (90%) na mesma concentração, indicando possivelmente, a presença de metabólitos secundários com potencial fitotóxico nesta sub-fração.

## DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que folhas de *D. brasiliensis* apresentam propriedades fitotóxicas sobre o crescimento de coleóptilos de trigo. Dessa forma, são necessários novos fracionamentos, a partir da fração ativa selecionada, para isolar e caracterizar os compostos responsáveis pelo efeito. Os resultados poderão ser úteis em pesquisas para selecionar compostos naturais com atividade herbicida, visando a diminuição de problemas de resistência de plantas infestantes, saúde e contaminação dos recursos naturais.

## CONCLUSÃO

As frações do extrato hexânico de folhas de *D. brasiliensis* evidenciaram potencialidades fitotóxicas sobre o crescimento de coleóptilos de trigo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MACIAS, F.A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J.M. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 48, p. 2512-2522, 2000.

MALHEIROS, A.; CECHINEL FILHO, V.; SCHMITT, C.B.; YUNES, R.A.; ESCALANTE, A.; SVETAZ, L., ZACCHINO, S.; MONACHE, F.D. Antifungal activity of drimane sesquiterpenes from *Drimys brasiliensis* using bioassayguided fractionation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 8, n. 2, 335-339, 2005.

VYVYAN, J.R. Allelochemicals as leads for new herbicides and agrochemicals. *Tetrahedron*, v. 58, p. 1631-1646, 2002.

## Agradecimento

Os autores agradecem à CAPES e ao CNPq pelo suporte financeiro.