

Atividade antitumoral do *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae)

Luciano da Silva Momesso,¹ Rute Mendonça Xavier de Moura,² Dulce Helena Jardim Constantino^{*2}

¹Faculdades Integradas de Ourinhos, Rod. BR 153, km 338,4, Bairro Água do Cateto, 19909-100 Ourinhos-SP, Brasil

²Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Sagrado Coração, Rua Irmã Armanda, 10-50, Jd. Brasil, 17011-160 Bauru-SP, Brasil

RESUMO: O *Ageratum conyzoides*, vegetal conhecido popularmente no Brasil é constituído por várias substâncias químicas, dentre elas os flavonóides, aos quais já foi atribuída a atividade antitumoral. Neste estudo foi avaliado o efeito das frações clorofórmica e metanólica do extrato AcOEt das folhas sobre o crescimento do tumor de Ehrlich. Foi constatado que o tratamento com as frações metanólicas, nas doses de 50 mg/kg de peso foi eficaz, inibindo o crescimento tumoral. A porcentagem de inibição para a fração metanólica estabilizada foi de 69,84% e de 68,25% para a fração metanólica não estabilizada. Estudos posteriores se fazem necessários para esclarecer quais os mecanismos envolvidos nesta inibição do crescimento tumoral.

Unitermos: *Ageratum conyzoides*, Asteraceae, atividade antitumoral, tumor de Ehrlich.

ABSTRACT: “Antitumoral activity of the *Ageratum conyzoides* L. (Asteraceae)”. *Ageratum conyzoides*, a popular vegetal in Brazil, is composed by many chemical compounds, including flavonoids, and antitumoral activity has been attributed to it. In this assay the effect of chloroform and methanol fractions from EtOAc extract of the leaves on the growth of the Ehrlich tumor was evaluated. Under our experimental conditions we have observed that the treatment with methanol fractions, under the dosage of 50 mg/kg was efficient on inhibiting the tumoral growth. There was an inhibition percentage of 69.84% to the stabilized methanol fraction and 68.25% to the non-stabilized fraction. Further studies are necessary to clarify which mechanisms are involved in the inhibition of the tumoral growth.

Keywords: *Ageratum conyzoides*, Asteraceae, antitumoral activity, Ehrlich tumor.

INTRODUÇÃO

O *Ageratum conyzoides* é uma planta nativa da América, com adaptação a diversas condições ambientais, estabelecendo-se em várias regiões de clima tropical e subtropical do mundo. Varia desde o sudeste da América do Norte até a América Central. Também é encontrado em vários países de regiões tropicais e subtropicais, inclusive no Brasil. Planta considerada invasora em cerca de cinquenta países, em outros tem valor como ornamental, na Malásia é usada como forrageira para cabras, bovinos e muares (Castro et al., 2006; Ming, 1999; Ladeira et al., 1987), que floresce entre setembro e outubro. É uma planta silvestre, ruderal, habitando desde terrenos úmidos a secos e elevados, nas margens de estradas e culturas (Siqueira-Jaccoud, 1961).

A composição principal do *A. conyzoides* é baseada em óleos essenciais com terpenos (salineno, pineno, eugenol, cineol, felandreno, limoneno, linalol, terpineol e cariofileno), compostos cumarínicos e benzofuranos, resinas, alcalóides, flavonas, flavonóides e cromonas

(Laus, 1994). Suas formas de extrato mais utilizadas são a infusão a 2% e a 5%, tintura a 20% e extrato glicocolcoólico. Ocorrem também a presença de cromenos, principalmente os precocenos I e II, que causam metamorfose prematura em diversas espécies de insetos, levando à formação de adultos estéreis (Castro et al., 2004; Castro et al., 2006).

A planta exerce elevada gama de atividade biológica, tais como atividade antimicrobiana, na cicatrização de feridas de queimaduras, no tratamento de cólicas, diarreia, flatulência e reumatismo agudo, ação vasoconstritora, analgésica e antiinflamatória (Barbosa et al., 1994; Durodola, 1977; Ladeira et al., 1987). Sua atividade antiinflamatória foi confirmada cientificamente por trabalho financiado pela extinta Central de Medicamentos (CEME). Recentemente foi relatado que a decoção de suas folhas demonstraram atividade frente a inflamações ovarianas, amenorréia, dismenorréia, reumatismo e diarreia (Agra et al., 2008). Contém também alcalóides pirrolizidínicos, presentes nos ramos floríferos, os quais apresentam elevada hepatotoxicidade (Castro et al., 2006).

A atividade antitumoral foi relatada em estudo

realizado por Ravishankar et al. (1994), efeito atribuído provavelmente aos flavonóides presentes no vegetal. Embora alguns trabalhos tenham mostrado que os flavonóides podem apresentar efeito mutagênico, em geral são considerados como benéficos no tratamento de doenças circulatórias e hipertensão, agindo como cofator da vitamina C (Zuanazzi & Montanha, 2000). Outras atividades biológicas também são conferidas aos flavonóides, sendo a principal delas a atividade antioxidante, além de antiproliferativa e moduladora da transdução de sinais celulares (Muschietti & Martino, 2007).

Em vista dos fatos relatados anteriormente, este estudo teve como principal objetivo a avaliação do efeito antitumoral do *Ageratum conyzoides* (frações clorofórmica e metanólica do extrato bruto) utilizando-se como modelo experimental o tumor ascítico de Ehrlich em camundongos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

A planta foi cultivada no Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas da Coordenadoria de Assistência Técnica Integral (CATI) de Bauru-SP e suas folhas foram coletadas em 18 de setembro de 2000. Um exemplar de *A. conyzoides* é mantido no Herbário Baur da Universidade do Sagrado Coração de Bauru-SP. Uma parte do material vegetal obtido foi submetido ao processo de estabilização por autoclavagem (121 °C, 15 min) a fim de inativar possíveis interferentes no extrato a ser obtido. Estas frações estabilizadas receberam a sigla E (estabilizado) e as não estabilizadas, a sigla NE.

Preparo das frações

Folhas do vegetal foram previamente secas em estufa de ar circulante e então pulverizadas. Em seguida os pós foram ressuspensos em acetato de etila e particionados com uma solução metanol-água (9:1), sendo obtidas as frações AcOEt-E e AcoEt-NE, as quais foram concentradas. As frações hidroalcoólicas foram particionadas com clorofórmio, sendo obtidas as frações MeOH-E, MeOH-NE, CL-E e CL-NE. Todas as frações foram suspensas em 0,2 mL de água destilada estéril, com auxílio de um aparelho de ultra-som e banho-maria e filtradas em algodão com a finalidade de se obter doses de 50 e 100 mg/kg de peso.

Animais

Foram utilizados camundongos suíços, machos, de quatorze semanas, com 25 g em média. Durante a fase experimental os animais receberam ração balanceada e água *ad-libitum*.

Neoplasia

Foi empregado o Tumor Ascítico de Ehrlich (TAE). Foi implantada uma suspensão contendo 10⁶ células neoplásicas, em 0,1 mL de solução salina apirogênica, por via intraperitoneal (IP). Avaliação do crescimento tumoral foi realizada através de contagem de células tumorais presentes no lavado peritoneal, dez dias após o implante. A determinação do número total de células neoplásicas foi realizada através da contagem das suspensões coradas por cristal violeta a 0,5% em Câmara de Neubauer.

Tratamento

Grupos com dez animais cada foram tratados com frações CL-E, CL-NE, MeOH-E e MeOH-NE nas doses de 50 e 100 mg/kg de peso através de injeção *i.p.* O grupo-controle recebeu injeção de solução salina esterilizada.

Análise estatística

O estudo dos resultados obtidos foi realizado por análise de variância não-paramétrica, utilizando o teste de Kruskal-Wallis, complementado com as comparações múltiplas entre porções de tratamento (Siegel & Castellan-Jr, 1988).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparando-se o grupo-controle e aqueles tratados com as frações clorofórmicas estabilizada (CL-E) e não estabilizada (CL-NE) de 50 e 100 mg/kg é possível observar indução do crescimento neoplásico, onde não houve interferência do processo de estabilização. Não são observadas diferenças significativas entre os grupos, porém é possível inferir que com as doses de 100 mg/kg a indução do crescimento neoplásico foi menor. Os dados estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1: Avaliação do crescimento tumoral nos grupos tratados pelas frações clorofórmicas.

GRUPOS	TAE (contagem)
Fração clorofórmica não estabilizada 100 mg/kg	85,00*±47,50**
Fração clorofórmica não estabilizada 50 mg/kg	89,50*±47,50**
Fração clorofórmica estabilizada 100 mg/kg	92,00*±92,50**
Fração clorofórmica estabilizada 50 mg/kg	100,00*±97,00**
Solução salina estéril a 0,9%	63,00*±36,50**
	p<0,01***

* valores expressos em mediana

** semi-amplitude total

*** nível de significância (p<0,01)

A Figura 1 representa o efeito das frações clorofórmicas (FR-CL) estabilizada e não estabilizada sobre o crescimento neoplásico nas doses de 50 e 100 mg/mL.

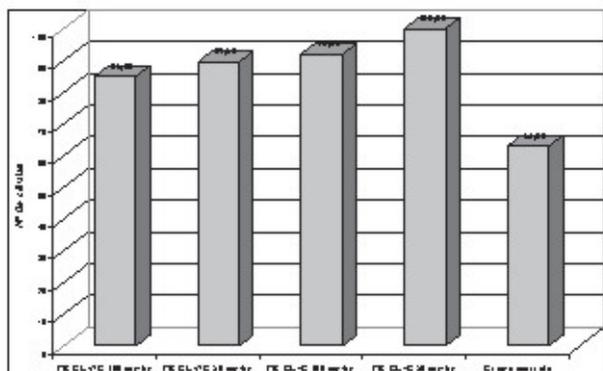


Figura 1. Efeito das frações clorofórmicas no crescimento do Tumor Ascítico de Ehrlich.

Ocorreu indução do crescimento tumoral nos grupos tratados com as frações clorofórmicas e isto sugere atividade sinérgica dos compostos químicos ou a existência de substâncias indutoras. Ming (1999) relata a presença de precocenos em plantas, que são substâncias com potencial indutor de mitoses, sendo, portanto, estimulantes da divisão celular, fato observado no desenvolvimento de larvas de alguns insetos. Craveiro & Machado (1986) relatam que muitas plantas produzem micromoléculas tais como alcalóides, flavonóides, triterpenos, limonóides, dentre outras, que apresentam indução mitótica e com isso função de proteção contra fitopatógenos e insetos fitófagos.

Com relação aos resultados obtidos dos tratamentos com as frações metanólicas, exceto o grupo tratado com a fração metanólica não estabilizada (MeOH-NE) de 100 mg/kg, todos apresentaram crescimento tumoral inferior ao grupo-controle, sem diferença significativa em comparação a este último. Os grupos tratados com as frações metanólicas não estabilizada (MeOH-NE) de 50 mg/kg e estabilizada (MeOH-E) de 50 mg/kg apresentaram menor crescimento tumoral, com diferenças de valores não significativas estatisticamente. O tratamento com a fração MeOH-E 100 mg/kg reduz o crescimento neoplásico de forma significativa. Este resultado foi superior aos apresentados pelos grupos tratados com as frações MeOH-NE 50 mg/kg e Me-OH-E 50 mg/kg, sendo esta variação estatisticamente significativa.

A dose utilizada na fração MeOH-NE 100 mg/kg não é ideal para o tratamento, podendo-se sugerir então que o efeito do tratamento com as frações MeOH é dose-dependente.

Os resultados obtidos são sugestivos de que o potencial observado em relação às frações MeOH de *A. conyzoides* são eficazes no tratamento do tumor de Ehrlich. Porém, há necessidade de purificação das frações para a realização de novos experimentos e observação de

possíveis atividades relacionadas a sinergia da mistura de substâncias nas frações ou se o efeito está no potencial das substâncias puras.

Na Tabela 2 encontram-se os resultados do crescimento tumoral obtidos nos grupos de tratamento com as frações metanólicas e do grupo-controle.

Tabela 2. Avaliação do crescimento tumoral nos grupos tratados pelas frações metanólicas.

GRUPOS	TAE (contagem)
Fração metanólica não estabilizada 100 mg/kg	67,50*±36,00**
Fração metanólica não estabilizada 50 mg/kg	20,00*±15,50**
Fração metanólica estabilizada 100 mg/kg	37,00*±70,00**
Fração metanólica estabilizada 50 mg/kg	19,00*±59,50**
Solução salina estéril a 0,9%	63,00*±36,50**

p<0,01***

* valores expressos em mediana

** semi-amplitude total

*** nível de significância (p<0,01)

Na Figura 2 estão representados os dados obtidos para o tratamento dos animais com as frações metanólicas (MeOH) de *A. conyzoides*.

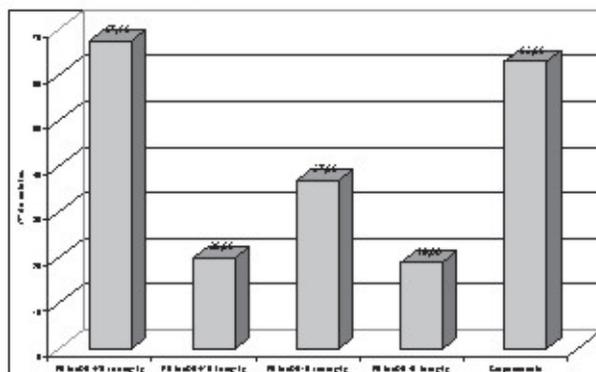


Figura 2. Efeito das frações metanólicas no tratamento do Tumor Ascítico de Ehrlich.

A Figura 3 revela os resultados da atividade inibitória dos extratos. As frações metanólicas MeOH-NE 50 mg/kg e MeOH-E 50 mg/kg são as que ilustraram resultados mais significativos.

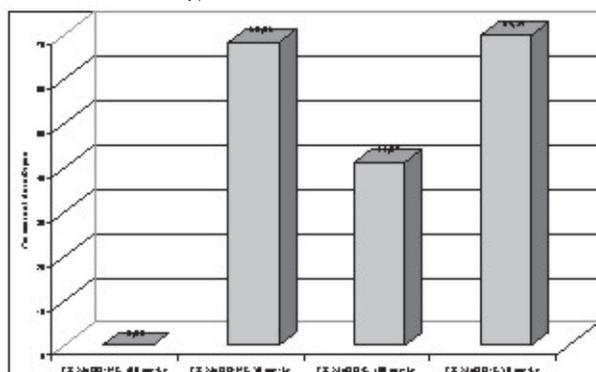


Figura 3. Inibição percentual do crescimento tumoral para os grupos tratados com as frações metanólicas.

A estabilização é um processo que utiliza o calor e a pressão como princípios básicos para a inativação de agentes deletérios nas plantas, como por exemplo enzimas que catalisam processos bioquímicos e alteram as substâncias presentes nos vegetais. Pode-se sugerir que estas diferenças observadas entre as frações estabilizadas e não estabilizadas são devidas a atividade da temperatura aliada a pressão, que podem ter alterado os constituintes químicos presentes nas frações (Prista et al., 1992). Falkenberg et al. (2000) relatam que podem ocorrer alterações estruturais dos compostos químicos presentes no extrato vegetal, o que levaria a uma variação significativa entre as frações submetidas a esse processo quando comparadas àquelas que não passaram por esse procedimento.

A sinergia de substâncias pode ocorrer com frequência, podendo tornar a fração mais ou menos ativa, podendo também contribuir com a toxicidade. Os resultados obtidos sugerem uma provável ocorrência de sinergia entre compostos químicos nas frações.

Como os objetivos deste trabalho foram apenas avaliar o efeito das frações obtidas do extrato bruto de *A. conyzoides*, são necessários estudos complementares para a elucidação das dúvidas surgidas aqui.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade do Sagrado Coração de Bauru-SP e aos professores Dr. Jairo Kenupp Bastos e Dr. Fernando Batista da Costa do Laboratório de Farmacognosia e Princípios Ativos Naturais da FCFRP-USP.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agra MF, Silva KN, Basília IJLD, Freitas PF, Barbosa-Filho JM 2008. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 18: 472-508.
- Barbosa AD, Ferreira RCV, Valente PHM 1994. Atividade antimicrobiana de extratos fluidos de plantas medicinais brasileiras. *Lecta* 12: 153-163.
- Castro HG, Oliveria LO, Barbosa, LCA, Ferreira FA, Silva, DJH, Mosquim PR, Nascimento EA 2004. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. *Quim. Nova* 27: 55-57.
- Castro HG, Ferreira FA, Silva, DJH, Ribeiro-Jr JI 2006. Análise do crescimento de acessos de mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.) em dois ambientes. *Rev Ciência Agrônômica* 37: 44-49.
- Craveiro AA, Machado DI 1986. De aromas, insetos e plantas. *Ciência Hoje* 4: 54-63.
- Durodola JI 1977. Antibacterial property of crude extracts from herbal wound healing remedy – *Ageratum conyzoides*. *Planta Med* 32: 388-390.
- Ladeira AM, Zaidan LBP, Figueiredo-Ribeiro RCL 1987. *Ageratum conyzoides* L. (Compositae): germinação, floração e

ocorrência de derivados fenólicos em diferentes estádios de desenvolvimento. *Hoehnea* 15: 53-62.

- Laus CB 1994. *Manual de fitoterapia: plante saúde*. Curitiba: Prefeitura Municipal de Curitiba.
- Ming LC 1999. *Ageratum conyzoides*: a tropical source of medicinal and agricultural products. In: Janick J (ed.) *Perspectives on new crops and new uses*. ASHS Press. p. 469-473.
- Muschietti LV, Martino VS 2007. Atividades biológicas dos flavonóides naturais. In: Yunes RA, Cechinel-Filho V. *Química de produtos naturais, novos fármacos e a moderna farmacognosia*. Itajaí: Univali. p. 183-208.
- Prista LN, Alves AC, Morgado RM 1992. *Técnica farmacêutica e farmácia galênica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.
- Ravishankar T, Vedavalli L, Nambi AA, Selvam V 1994. *Role of tribal people in the conservation and utilisations of plant genetic resources*. Madras: MSSRF.
- Siegel S, Castellan-Jr NJ 1988. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. New York: McGraw-Hill.
- Falkenberg MB, Santos RI, Simões CMO. *Introdução à Análise Fitoquímica*. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (orgs.) 2000. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/ UFSC.
- Siqueira-Jaccoud RJ 1961. Contribuição para o estudo farmacognóstico do *Ageratum conyzoides* L. *Rev Bras Farmácia* 42: 177-197.
- Zuanazzi JAZ, Montanha JA 2000. *Flavonóides*. In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR (Org.). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 489-516.