

***Atividade antimicrobiana e toxicidade do látex de Euphorbia tirucalli L. (aveloz)***

**Actividad antimicrobiana y toxicidad de látex de Euphorbia tirucalli L. (aveloz)**

**Microbial activity and toxicity of *Euphorbia tirucalli* L. (aveloz) latex**

**Dra. Maria Fernanda Cordeiro Arruda,<sup>I</sup> MSc. Rosimeire Takaki Rosa,<sup>II</sup>  
Dr. Edvaldo Antonio Ribeiro Rosa,<sup>II</sup> Dra. Patrícia Maria Stuelp Campelo<sup>I</sup>**

<sup>I</sup> Laboratório de Bioquímica. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

<sup>II</sup> Laboratório de Pesquisa em Xenobióticos. Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Escola de Saúde e Biociências. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

---

**RESUMO**

**Introdução:** o látex de *Euphorbia tirucalli* L. (Euphorbiaceae), empregado popularmente na cura e prevenção de diversas doenças, foi analisado no presente trabalho.

**Objetivo:** avaliar a atividade antimicrobiana e toxicidade do látex de aveloz.

**Métodos:** foram realizados dosagens de carboidratos e proteínas e análise de metabólitos secundários; ensaios de atividade antimicrobiana; citotoxicidade em célula tumoral e toxicidade oral.

**Resultados:** o látex apresentou 165,29 µg/mL de proteínas e 129,5 µg/mL de carboidratos. Foram evidenciados alcaloides, cumarinas e núcleo esteroidal. Não foi observada ação antimicrobiana, hepato ou nefrotóxica e não houve alteração do número de células sanguíneas dos animais tratados. Porém, constatou-se redução de ~60% da adesão de células tumorais (HeLa) *in vitro*.

**Conclusão** : os resultados obtidos mostram que o látex de *E. tirucalli*, nas concentrações testadas, possui baixa toxicidade e não apresenta atividade antimicrobiana.

**Palavras-chave**: citotoxicidade, planta medicinal, toxicidade oral.

---

## RESUMEN

**Introducción**: el látex de *Euphorbia tirucalli* L. (Euphorbiaceae), popular, se utiliza en la curación y prevención de diversas enfermedades, se analiza en el presente estudio.

**Objetivo**: evaluar la actividad antimicrobiana y la toxicidad de látex de *Euphorbia tirucalli*.

**Métodos**: se llevaron a cabo determinaciones de carbohidratos, proteínas y análisis de metabolitos secundarios. Pruebas de actividad antimicrobiana; citotoxicidad en células tumorales y toxicidad oral.

**Resultados**: el látex mostró 165,29 µg/mL de proteína y 129,5 µg/mL de carbohidratos. Se detectaron alcaloides, cumarinas y núcleo esteroide. No se observó actividad antimicrobiana, hepato o nefrotóxica y no hubo cambios en el número de células de la sangre de los animales tratados. Sin embargo, se observó una reducción de 60 % de adhesión de células tumorales (HeLa) *in vitro*.

**Conclusión**: los resultados obtenidos muestran que el latex de *E. tirucalli* a las concentraciones evaluadas, tiene baja toxicidad y no presenta actividad antimicrobiana.

**Palabras clave**: citotoxicidad, plantas medicinales, toxicidad oral.

---

## ABSTRACT

**Introduction**: *Euphorbia tirucalli* L. (Euphorbiaceae) latex, commonly used in healing and prevention of various diseases, was evaluated in this study.

**Objective**: to evaluate the antimicrobial activity and toxicity of aveloz latex.

**Methods**: were performed carbohydrates and proteins dosages and analysis of secondary metabolites; antimicrobial activity assays; cytotoxicity in tumor cells and oral toxicity.

**Results**: The latex had 165.29 µg/mL of protein and 129.5 µg/mL of carbohydrate. Alkaloids, coumarins and steroidal nucleus were found. No antimicrobial, hepato or nephrotoxic action were observed and there was no change in the number of blood cells of treated animals. However, it was found 60 % reduction in the adhesion of tumor cells (HeLa) *in vitro*.

**Conclusion**: The results show that *E. tirucalli* latex in tested concentrations has low toxicity and has no antimicrobial activity.

**Key words**: cytotoxicity, medicinal plant, oral toxicity.

## INTRODUÇÃO

*Euphorbia tirucalli* L. é uma árvore da família Euphorbiaceae, utilizada na medicina popular como anti-herpético, antirreumático, anti-inflamatório, antiasmático, antimicrobiano e antitumoral.<sup>1</sup>

Pesquisas revelaram importantes ações farmacológicas de extratos da planta e frações purificadas, do látex bruto ou de substâncias isoladas de *E. tirucalli*, como anti-artrítico,<sup>2</sup> anti-herpético<sup>3</sup> e citotóxico para células tumorais gástricas<sup>4</sup> porém, também têm sido demonstrados seus efeitos tóxico, irritante, carcinogênico e como causador de conjuntivite.<sup>5</sup>

Tendo em vista seu uso popular, potencial terapêutico e risco toxicológico, neste estudo o látex de *E. tirucalli* foi analisado para avaliar sua composição, verificar sua ação antibacteriana e antifúngica, avaliar a atividade citotóxica em células derivadas de câncer cervical (HeLa) e verificar se a administração oral, conforme indicação popular, pode provocar toxicidade em ratos.

## MÉTODOS

O material vegetal foi coletado em Curitiba/PR. Um exemplar foi identificado e depositado no Herbário da PUCPR (nº 11280).

A extração do látex foi realizada através da quebra dos nós caulinares e a solução teste foi obtida por diluição em água destilada (50 µL/mL). Foi avaliada a presença de carboidratos e proteínas através das metodologias de *Dubois y colaboradores*<sup>6</sup> e *Bradford*.<sup>7</sup> A análise monossacarídica foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS). Foi realizada, ainda, análise qualitativa dos metabólitos secundários.<sup>8</sup>

Testes antimicrobianos foram conduzidos com *Escherichia coli* (ATCC®25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC®25923) *Candida albicans* (ATCC®18804), *Candida tropicalis* (ATCC®750), *Candida dubliniensis* (MYA®646), *Candida guilhermondii* (ATCC®7350), *Candida parapsilosis* (ATCC®22019) e *Candida krusei* (ATCC®6258). Foram testadas quatro concentrações do látex bruto em água destilada (1, 5, 10 e 50 µL/mL) e cinco concentrações do látex liofilizado, diluído em dimetilsulfóxido (DMSO) (0,2, 1, 2, 4 e 10 mg/mL). Após a inoculação das bactérias em ágar Mueller-Hinton e das leveduras em ágar Sabouraud, foram empregadas três técnicas, as quais consistiram: 1) na perfuração do ágar, para deposição de 50 µL de cada concentração do látex; 2) na utilização de cilindros de aço inoxidável sobre o ágar, para a aplicação de 50 µL de cada concentração do material testado e 3) na utilização de discos estéreis de papel, impregnados com o látex bruto liofilizado e ressuspenso em DMSO nas concentrações de 10, 20, 60, 120 e 180 µg/disco. As placas foram mantidas em estufa a 37 °C e, após 48 h, foram observadas para detecção de halos de inibição. Foi utilizado clorexidina como controle positivo, além dos controles negativos contendo apenas os solventes utilizados.

Para avaliação preliminar da ação antitumoral atribuída ao látex, foi realizado teste de citotoxicidade e interferência na adesão de células de carcinoma uterino (HeLa).

As células ( $1 \times 10^6$  células/poço) foram incubadas com o látex em diferentes concentrações (12,5, 25, 37,5 e 50  $\mu\text{g/mL}$ ) por 24 horas, em estufa de  $\text{CO}_2$  (37 °C). As células não aderidas foram aspiradas e as placas foram lavadas com tampão salina-fosfato (PBS). As células aderidas foram fixadas com metanol, lavadas com PBS e coradas com solução hidroalcoólica de cristal violeta (2 %). Após lavagem, as células coradas foram lisadas com solução de citrato de sódio 0,1 M e etanol (1:1). A leitura da cor formada foi realizada em leitor de microplaca a 550 nm.

Para analisar a toxicidade hepática e renal do látex, a solução aquosa foi administrada a vinte ratos (*Rattus norvegicus*), machos (~2 meses), por um período de 60 dias. O látex bruto foi solubilizado em água (50  $\mu\text{L}/250 \text{ mL}$ ), conforme cultura popular, a qual foi administrada *ad libitum* aos animais. Os animais do grupo controle ( $n = 10$ ) receberam apenas água. A toxicidade oral foi determinada através da análise de parâmetros histológicos, citológicos e hematológicos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através das análises da composição do látex, constatou-se cerca de 3,30 mg/mL de proteínas e 2,59 mg/mL de carboidratos totais, onde manose e glicose revelaram-se como monossacarídeos majoritários. Testes qualitativos evidenciaram a presença de alcaloides, cumarinas e núcleo esteroidal, corroborando com os dados descritos em literatura.<sup>9</sup>

Nos testes microbiológicos realizados, não houve inibição do crescimento dos microrganismos. Este resultado é significativo, uma vez que a população indica fortemente o uso desta substância como microbicida. Vale & Orlana<sup>10</sup> relataram atividade antimicrobiana do extrato etanólico bruto das partes aéreas frescas de *E. tirucalli* contra os microrganismos *Salmonella Typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Citrobacter freundii* e *Serratia odorifera*. Porém, Brasileiro y colaboradores<sup>11</sup> reportaram ausência dessa atividade do extrato etanólico bruto das partes aéreas secas, contra *S. aureus* e *Escherichia coli*. Estudos apresentaram uma melhor atividade antimicrobiana do extrato metanólico de aveloz, quando comparado com o extrato aquoso, demonstrando a importância da escolha do método de extração de uma droga vegetal.<sup>12</sup>

Os resultados da avaliação citotóxica para células HeLa demonstraram redução de aproximadamente 60 % das células tratadas com o látex em relação ao controle, sem diferença significativa entre as concentrações. Betancur-Galvis y colaboradores,<sup>3</sup> obtiveram 100 % de desadesão de células Vero utilizando extratos de éter de petróleo e diclorometano obtido de caules de *E. tirucalli* na concentração de 200  $\mu\text{g/mL}$ , além de terem determinado uma alta atividade anti-herpética. Comparativamente, o euphol, um triterpeno tetracíclico extraído de *E. tirucalli*, apresentou alta toxicidade em células de câncer gástrico humano.<sup>4</sup>

Os parâmetros histológicos, citológicos e hematológicos, dos animais tratados com o látex diluído, não apresentaram alterações significativas, indicando que o látex de aveloz, na concentração administrada, não se mostrou tóxico aos animais.

Os resultados obtidos sugerem que o látex bruto de *E. tirucalli*, nas concentrações testadas, apresenta baixa toxicidade e pode demonstrar algum potencial anticâncer.

Estudos adicionais devem ser realizados para confirmar a atividade antitumoral observada, respaldar o uso popular e, conseqüentemente, validar a espécie como droga vegetal.

## REFERÊNCIAS

1. Girach RD, Singh S, Ahmed M, Brahmam M, Misra MK. Euphorbiaceae in native health practices of district Bhadrak, Orissa, India. *Fitoterapia*. 1996;69(1):24-8.
2. Bani S, Kaul A, Khan B, Gupta VK, Satti NK, Suri KA, et al. Anti-arthritic activity of a biopolymeric fraction from *Euphorbia tirucalli*. *J Ethnopharmacol*. 2007;110(1):92-8.
3. Betancur-Galvis LA, Morales GE, Forero JE, Roldan J. Cytotoxic and antiviral activities of Colombian medicinal plant extracts of the *Euphorbia* genus. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97(4):541-6.
4. Lin MW, Lin AS, Wu DC, Wang SS, Chang FR, Wu YC, et al. Euphol from *Euphorbia tirucalli* selectively inhibits human gastric cancer cell growth through the induction of ERK1/2-mediated apoptosis. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(12):4333-9.
5. Mwine J, Damme P. *Euphorbia tirucalli* L. (Euphorbiaceae) – The miracle tree: current status of available knowledge. *Sci Res Essays*. 2011;6(23):4905-14.
6. Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal Chem*. 1956;28(3):350-6.
7. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72(1):248-54.
8. Moreira EA. Contribuição para o estudo fitoquímico de *Lobelia hassleri* A. Zahlb e *Lobelia stellfeldi* R. Braga (Campanulaceae). *Trib farm*. 1979;47(1):13-39.
9. Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum; 2002.
10. Vale VV, Orlanda JFF. Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico das partes aéreas de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae). *Scientia Plena*. 2011;7(4):1-6.

11. Brasileiro BG, Pizziolo VR, Raslan DS, Jama CM, Silveira D. Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district. Rev Bras Cienc Farm. 2006;42(2):195-202.
12. Parekh J, Jadeja D, Chanda S. Efficacy of aqueous and methanol extracts of some medicinal plants for potential antibacterial activity. Turk J Biol. 2005;29:203-10.

Recibido: 14 de febrero de 2014.

Aprobado: 15 de abril de 2015.

*Patrícia Maria Stuelp Campelo* . Laboratório de Bioquímica. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

Correo electrónico: p.campelo@pucpr.br