

CARACTERIZAÇÃO GÊNICA DO TRITERPENO TETRACYCLICO EUFOL DE *Euphorbia tirucalli*

Karine Aparecida Oberg Tavares¹, Michele Andressa Vier Wolski²

¹Acadêmica do Curso de Biomedicina, Faculdade Cesumar de Ponta Grossa - UNICESUMAR. Bolsista PIC - UniCesumar. karineoberg@hotmail.com

²Orientadora, Doutora, Docente do Departamento de Biomedicina, Faculdade Cesumar de Ponta Grossa – UNICESUMAR. michele.wolski@unicesumar.edu.br

RESUMO

Planta originária da África e trazida ao Brasil pelos escravos conhecida como Aveloz é popularmente usado para o tratamento complementar de verrugas, inflamação na garganta, asma e inclusive contra o câncer. Embora uma planta com alta taxa de toxicidade, a *Euphorbia tirucalli* é composta por muitos princípios ativos e no látex, substância leitosa, encontramos a presença de terpenos, ester altamente insaturado que dá a característica anticarcinogênico. No presente trabalho investigaremos a veracidade da planta no tratamento e prevenção do câncer através da caracterização genética da enzima triterpêno eupfol.

PALAVRAS-CHAVE: Anotação gênica; Aveloz; Câncer.

1 INTRODUÇÃO

As plantas e ervas ainda são usadas para fins terapêutico ou como tratamento complementar a medicina moderna, ainda muitos são os estudos e pesquisas sobre a veracidade dos tratamentos das plantas de uso popular, essa pratica milenar tem levado a muitos relatos de cura (GASPAR, 2008).

A *Euphorbia tirucalli* popularmente conhecida como aveloz é um arbusto que apresenta galhos duros, cilíndricos e verticulares, suas folhas e flores são pequenas e produz uma seiva leitosa altamente toxica corrosiva e provoca reações alérgicas, entretanto possui propriedades com ação antitumorais, fato este que chamou a atenção para o estudo desta planta (OLIVEIRA; COIMBRA, 2014).

Sabendo-se que a neoplasia, tumor também chamado de câncer são células novas que se diferenciaram cresceram e se desenvolveram de forma anormal e incontrolada causando um tecido distinto e que é a causa de alta taxa de mortalidade pelo mundo e isso tem provocado muitos estudos e pesquisas acerca de meios que ajudem a controlar ou até mesmo encontrar a cura para o câncer (ALVES; NEPOMUCENI, 2012).

Segundo Avelar (2010) aproud Oliveira; Coimbra (2014), o Latex da *E. tirucalli* estimula o organismo a produzir citosinas, que excitam o sistema imune a combater tumores. O látex desta é rico em diterpenoides, esterres diterpenicos de forbol, indenanos, dafnanos aromáticos que segundo Khaleghian (2010) aproud Alves; Nepomuceni (2012), ao entrar no citoplasma das células, o ingenano interage com proteínas citoplasmáticas e os neurônios expostos a esta substancia iniciam um processo que leva à morte celular, ou seja, induz a apoptose.

O terpeno encontrado no latex nas folhas e frutos da *E. tirucali*, possui funções de proteção térmica, estabilização de membranas, resistência contra herbívoros e microrganismos entre outros, apresentam variedade funcional e estrutural compõem essência volátil de flores e de óleos essenciais de ervas e especiarias, por isso são muito utilizados como agentes de sabores e de fragrâncias (NASCIMENTO, 2016).

Os compostos terpênicos são os constituintes fitoterápicos majoritários da *E. tirucalli* (SILVA; SANTOS 2002; SILVA, 2018) Em 1984, Nes et. al., identificaram a molécula triterpênica euphol (triterpeno tetracyclico eupfol), como principal constituinte do látex de *E. tirucalli*, desde então euphol tem sido alvo de inúmeras investigações para lucidar suas propriedades potenciais (SILVA, 2018, WACZUK, 2012 WANG, 2013).

O euphol tem um efeito promissor de citotoxicidade contra várias linhas celulares de câncer e inibiu significativamente a motilidade celular e a migração (YI SUN et al., 2018).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DE DNA GENÔMICO

A planta de *E. tirucalli* L *in natura* foi obtida no município de Ponta Grossa- PR, proveniente de cultivo orgânico e livre de defensivos agrícolas. Após a coleta das espécies botânicas, as partes vegetais foram transportadas para o Laboratório de Química da Faculdade Cesumar de Ponta Grossa. Para garantir a replicação do experimento, pretende-se fazer o cultivo desta, na estufa agrícola da Faculdade. Além disso, amostras de *E. tirucalli* L deverão ser catalogadas e depositadas em herbário.

O DNA genômico de *E. tirucalli* L será extraído segundo método CTAB de Doyle e Doyle (1987). Para tal, as folhas serão previamente pulverizadas em nitrogênio líquido.

2.2 MÉTODO MOLECULAR

2.2.1 Identificação de Genes

Para Identificar os Genes responsáveis pela biossíntese do triterpeno tetracyclico euphol, será realizada uma pesquisa bibliográfica em revistas indexadas nas bases de dados do Google Acadêmico, SciELO (*Scientific Electronic Library Online*) e PubMed (*National Library of Medicine*). Além disso, suas sequências gênicas serão obtidas em bancos de dados específicos como o GenBank.

2.2.2 Amplificação das Sequências

O isolamento das sequências de genes de triterpeno tetracyclico euphol ocorrerá por Reação em cadeia da polimerase (PCR) em um aparelho termociclador. com *primers* descritos na literatura ou desenhados neste estudo a partir da homologia das sequências de espécies relacionadas, obtidas no GenBank.

Os produtos da PCR serão analisados posteriormente por eletroforese em gel de agarose 1%.

2.2.3 Caracterização de Sequências

As sequências de genes triterpeno tetracyclico euphol de espécies relacionadas serão obtidas em bancos de dados específicos como o GenBank. Estas serão analisadas e editadas com o auxílio do programa Geneious 7.1.3 e submetidas ao software Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), presente no National Center for Biotechnology Information (NCBI). Na predição de genes, vários parâmetros serão avaliados, tais como a existência de sequências no DNA que possam funcionar como promotores seguidos por sequências que possam gerar uma proteína funcional. Para tal o algoritmo GenScan será empregado para se fazer a busca por ORFs (Open Reading Frames) ou fases de leitura aberta do código genético, identificadas por um códon iniciador e um terminador, que correspondem a sequências com possíveis regiões codificadoras.

3 RESULTADOS PRELIMINARES

Este trabalho está em fase de andamento, obedecendo ao cronograma estabelecido no projeto de pesquisa, por esse motivo conta com resultados preliminares, que por hora são pouco expressivos. Contudo, espera-se entender melhor os efeitos do tratamento popular anticarcinogênico sobre o metabolismo celular. Elucidando quais genes estão envolvidos na biossíntese do triterpeno tetracyclico euphol, como interação, quais são suas predições gênicas e adicionalmente comprovando sua existência em *E. tirucalli* L.

De forma geral espera-se contribuir para o conhecimento dos genes responsáveis pela suposta cura do câncer.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabendo que o triterpeno tetracyclico euphol apresenta uma atividade citotóxica, testada em uma ampla gama de linhagens celulares de câncer. O trabalho procura elucidar estudos acerca de componentes da planta *Euphorbia tirucalli* sobre uma doença que ainda acomete muitas pessoas no mundo todo o câncer, o principal componente pesquisado é o euphol, componente encontrado no látex da *E. tirucalli*, esse, possui ação bastante significativa sobre células tumorais. Sabendo que muitas pessoas utilizam seu látex como medicamento fitoterápico no combate ao câncer, pesquisaremos genes do euphol, triterpeno tetracyclico euphol, que nos ajude a explicar a se há eficácia da planta no combate a doença.

REFERÊNCIAS

ALVES, E. M.; NEPOMUCENO, J. C. **Avaliação do efeito anticarcinogênico do látex do avelós (*Euphorbia tirucalli*), por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster***. 2012. 16 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina e Genética, Centro Universitário de Patos de Minas, Minas Gerais, 2012.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin** 19: 11-15, 1987

GASPAR, L. *Plantas medicinais*. **Pesquisa Escolar Online**, Fundação Joaquim Nabuco, Recife, 2008. Disponível em: <<http://basilio.fundaj.gov.br/pesquisaescolar/>>. Acesso em: 04/03/2019

NASCIMENTO, César Augusto. **CHARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE TERPENO SINTASES DE CITROS**. 2016. 62 f. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomi, Instituto Agronômico Curso de Pós-graduação em Agricultura Tropical e Subtropical, Campinas, 2016.

NES, W.D.; WONG, R.Y.; BENSON, M.; LANDREY, J.R.; NES, W.R. Rotational isomerism about the 17(20)-bond of steroids and euphoids as show by the crystal structures of euphol and tirucalol. **Procedures of National Academy of Science**, v.81, n.18, p.5896-5900, 1984.

OLIVEIRA, B. M.; COIMBRA, C. C. B. E. *Euphorbia tirucalli*: no tratamento complementar do câncer. **Revista Uningá Review**, [S.l.], v. 20, n. 3, jan. 2014

SILVA, V. A. O, et al. Euphol, um triterpeno tetracyclico, de *Euphorbia tirucalli* induz a autofagia e sensibiliza a citotoxicidade da temozolomida nas células de glioblastoma. **Investigational New Drugs**: Investigational New Drugs, Suíça, v. 37, n. 2, p.223-237, 22 jun. 2018.

Silva, VAO, Rosa, MN, Miranda-Gonçalves, V. et al. Invest New Drugs (2019) 37: 223. <https://doi.org/10.1007/s10637-018-0620-y>

SILVA, R. B. L.; SANTOS, J. U. M. **A etnobotânica de plantas medicinais da comunidade Quilombola de Curiaú, Macapá – AP, Brasil. Belém**, 172p. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal Rural da Amazônia. 2002.

SUN, Yi; GAO, Liang-liang; MENG-YUE, Tang. **Triterpenóides de Euphorbia maculata e seus efeitos antiinflamatórios.**2018. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6225269/>>. Acesso em: 02 abr. 2018.

WACZUK, E. P.; PEREIRA, K. B.; MACHADO, M. M. **Aspectos etnobotânicos, fitoquímicos, toxicológicos e farmacológicos da Euphorbia tirucalli L.: dos riscos às possibilidades Euphorbia tirucalli L.: dos riscos às possibilidades.** 2012. 22 f. TCC (Graduação) - Curso de Bioquímica Toxicológica e Ciências Farmacêuticas, Unipampa, Uruguaiana, 2012.

WANG, L.; WANG, G.; WANG, G. **Euphol arrests breast cancer cells at the G1 phase through the modulation of cyclin D1, p21 and p27 expression.** Disponível em: <<https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2013.1650>>. Acesso em: 26 jun. 2019.