

INTRODUÇÃO

A utilização de plantas para fins medicinais é praticada desde os tempos remotos e continua a ser difundida até os dias atuais. Com base na cultura popular passada de geração em geração, muitas pessoas têm feito uso das espécies vegetais para a prevenção ou tratamento de doenças. As árvores do gênero *Copaifera* têm sido amplamente estudadas. Este gênero compreende cerca de 72 espécies das quais 20 ocorrem no Brasil, sendo comumente encontrado nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Amazônica. As espécies deste gênero apresentam diversas propriedades biológicas como anti-inflamatória, antibacteriana e antifúngica. A *Copaifera lucens*, uma das espécies do gênero, é utilizada para a cicatrização de feridas, tratamento de derrames, dores de garganta e problemas de visão.



Figura 1. Árvore de *Copaifera lucens*.

Fonte: <http://www.plantasquecuram.blogspot.com.br/2013/01/pau-doleo-nome-cientifico-copaifera.html>

OBJETIVO

O presente estudo teve como objetivo avaliar o potencial citotóxico do extrato hidroalcoólico das folhas de *C. lucens* em células V79.

METODOLOGIA

O extrato das folhas de *C. lucens* foi fornecido pelo Prof. Dr. Sérgio Ricardo Ambrósio do Grupo de Pesquisa em Produtos Naturais da Universidade de Franca, São Paulo. A citotoxicidade foi avaliada por meio do ensaio de eficiência clonogênica em fibroblastos de pulmão de hamster Chinês (células V79).

As culturas celulares foram tratadas com concentrações do extrato que variaram entre 5 e 1250 µg/mL. Culturas controles negativo (sem tratamento), solvente (DMSO1%) e positivo (metil metanosulfonato, MMS, 110 µg/mL) foram incluídas. As culturas foram tratadas por 3 h e 300 células foram semeadas por frascos de cultura (três frascos por concentração). As culturas foram mantidas em estufa BOD a 37°C durante 10 dias e, ao final do período, o meio de cultura foi removido e as células lavadas com PBS (*phosphate buffered-saline*), fixadas em metanol/ácido acético/água destilada (1:1:8) por 30 minutos e coradas com Giemsa (1:30 de tampão fosfatos, pH 7,0) por 30 minutos.

As colônias formadas foram contabilizadas com uma lupa, a fim de definir as frações de sobrevivência – FS (%) obtidas no tratamento por meio da seguinte fórmula:

$$FS(\%) = \frac{A}{B} \times 100$$

onde *A* é o número de colônias encontradas nos diferentes tratamentos e *B*, o número de colônias encontradas no controle negativo (Franken et al., 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferenças significativas entre as culturas tratadas com 5, 10, 20, 40 e 80 µg/mL de extrato de *C. lucens* e o controle negativo, apresentando ausência de efeitos citotóxicos. Por outro lado, as culturas tratadas com concentrações maiores ou iguais a 160 µg/mL de extrato de *C. lucens* demonstraram diferenças significativas ($P < 0,05$) quando comparadas ao controle negativo, revelando efeito tóxico sobre as células. Outros estudos avaliaram o potencial citotóxico de diferentes espécies de *Copaifera*. Alves et al. (2009), em um estudo com o extrato hidroalcólico das partes aéreas *C. langsdorffii*, observaram efeitos citotóxicos em concentrações maiores que 120 µg/mL em culturas de células V79 pelo ensaio de eficiência clonogênica. Castro et al. (2013) avaliaram o citotoxicidade do óleo-resina de *C. langsdorffii* em células V79 por meio do ensaio de eficiência clonogênica. Os resultados mostraram que as concentrações maiores que 120 µg/mL foram citotóxicas. Lima et al. (2003) estudaram a citotoxicidade do óleo-resina da *C. multijuga Hayne* em linhagens de células de melanoma de camundongos utilizando o método de exclusão com Trypan Blue e MTT e observaram uma redução da viabilidade celular estatisticamente significativa em concentrações maiores ou igual

a 500 µg/mL. Uma avaliação do efeito do óleo-resina de *Copaifera sp.* sobre a proliferação celular in vitro realizada por Nogueira et al. (2012) mostrou que diluições nas concentrações de 0,1 µg/mL até 0,001 µg/mL mostraram-se tóxicas em células MDBK (Madin Darby Bovine Kidney, células normais de rim bovino).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alves, J. M.; Munari, C. C.; Monteiro Neto, M. A. B.; Bastos J. K.; Tavares, D. C.. Efeito protetor do extrato hidroalcoólico das partes aéreas da *Copaifera langsdorffii* contra danos induzidos por doxorrubicina em sangue periférico (resumos). http://web2.sbg.org.br/congresso/sbg2008/resumos_index.asp# Congresso Brasileiro de Genética, Aguas de Lindóia, SP, Brasil. 55, 2009.

Castro, P. T.; Alves, J. M.; Senedese, J. M.; Leandro, L. F.; Ambrósio, S. R.; Tavares, D. C. Avaliação do potencial genotóxico e antigênotoxicológico do óleo-resina de *Copaifera langsdorffii* em células V79. 17ª Jornada de Biomedicina da Unifran- A Universidade de Franca, Franca, p.15-25, 2013.

Franken, N. A. P.; Rodermond, H. M.; Stap, P.; Haveman, J.; Van Bree, C. Clonogenic assay of cells in vitro. Nature Protocols, v. 1, p. 9-2315, 2006.

Lima, S. R.; Junior V. F.; Christo H. B.; Pinto A. C e Fernandes P. D. In vivo e in vitro studies on the anticancer activity of *Copaifera multijuga* Hayne and its fractions. Phytotherapy Research. v.17, p.1048-53, 2003.

Nogueira, E. O.; Novaes, A. S. M.; Sanchez, C. M. S.; Andrade C. M. e Silva, M. F.A. Avaliação do efeito do óleo-resina de copaíba (*Copaifera sp.*) na proliferação celular in vitro. Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v. 49, p. 293-300, 2012.