AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTITUMORAL DO ÓLEO RESINA DE ÁRVORES DO GÊNERO *COPAIFERA* EM CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA CERVICAL

Vivian Kaori Inoue (PIBIC/CNPq), Renan Vinicius de Oliveira Nocetti (Coorientador), Celso Vataru Nakamura (Orientador).
E-mail: cvnakamura@gmail.com.

Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos/Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/Farmácia

Palavras-chave: Câncer do colo do útero; óleo de copaíba; citotoxicidade.

RESUMO

O câncer de colo do útero impulsiona a pesquisa por terapias naturais, como óleos do gênero *Copaifera*. Este estudo avaliou a atividade citotóxica e os mecanismos de ação celular dos óleos de *C. multijuga* e *C. reticulata* em células de adenocarcinoma cervical (HeLa). Após 48 h de tratamento, o ensaio MTT revelou redução da viabilidade tumoral, com CI_{50} de 49,17 µg/mL (C. multijuga) e 62,84 µg/mL (*C. reticulata*). Análises por microscopia eletrônica de varredura (MEV) nas células HeLa confirmaram alterações morfológicas significativas, como perda de microvilosidades, rupturas na membrana e diminuição do tamanho celular. Conclui-se que o óleo de copaíba induz forte citotoxicidade em células HeLa, comprometendo a integridade da membrana plasmática.

INTRODUÇÃO

O câncer caracteriza-se pela replicação celular desordenada e capacidade metastática, sendo a principal causa de mortes por neoplasias no mundo (OMS, 2025). Nas Américas, registraram-se mais de 4,2 milhões de novos casos e 1,4 milhão de óbitos em 2022 (OPAS). O câncer do colo do útero é o quarto mais incidente em mulheres, estando fortemente associado à infecção pelos tipos oncogênicos HPV-16 e HPV-18, responsáveis por 70% dos casos (INCa, 2022). Embora o tratamento convencional envolva cirurgia, quimioterapia e radioterapia (INCa, 2022), esses métodos causam uma lista de severos efeitos colaterais (FRIGO et al., 2015). Frente a isso, os óleos de árvores amazônicas do gênero *Copaifera*, usado tradicionalmente na medicina popular (DIEFENBACH et al., 2018), surgem como objeto de pesquisa para o desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficientes e menos invasivas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cultura Celular

Células HeLa foram mantidas em meio DMEM suplementado com 10% de SFB e antibióticos (penicilina 5000 U/mL e estreptomicina 5 mg/mL) a 37 ºC e 5% de CO_2. Passagens e plaqueamentos foram feitos após confluência.

Viabilidade Celular (MTT)

Células HeLa (placa de 96 poços, 24 h) foram tratadas com óleo de copaíba ou DMEM por 48 h. Adicionou-se MTT (2 mg/mL) por 4 h ao abrigo da luz, solubilizando-se o formazan em DMSO. A absorbância foi lida a 570 nm (Power WaveXS, BIO-TEK).

Análise Morfológica (MEV)

Após plaqueamento (24 poços, 24 h) e tratamento com CI_{50} e 2× CI_{50} do óleo de copaíba por 48 h, as células foram fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (24 h), desidratadas em etanol, secas ao ponto crítico de CO_2, metalizadas com ouro e analisadas em MEV Shimadzu SS-550 (ZANI et al., 2023).

Integridade da Membrana Plasmática

Células HeLa (6 poços) tratadas por 48 h (CI_{50}, 2× CI_{50} ou digitonina como controle positivo) foram ressuspensas em PBS (500 µL), marcadas com iodeto de propídio por 5 min e analisadas em citômetro FACSCalibur (10.000 eventos, software CellQuest) (ZANI et al., 2023).

Determinação do Tamanho Celular

Após tratamento de 48 h com CI_{50}, 2× CI_{50} ou ActD, as células foram ressuspensas em PBS (500 µL). A intensidade de fluorescência foi quantificada em espectrofluorímetro VICTOR X3 e normalizada pelo número de células (ZANI et al., 2023).

Análise Estatística

Dados expressos como média ± desvio padrão de ao menos três experimentos independentes. Utilizou-se ANOVA *one-way* ou *two-way* com pós-teste de Tukey ($p < 0,05$) no software GraphPad Prism 8.0.1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ensaio do MTT indicou redução dose-dependente da viabilidade de células HeLa, com CI_{50} de 49,17 ± 1,39 µg/mL para *Copaifera multijuga* e 62,84 ± 7,14 µg/mL para *Copaifera reticulata*. A análise morfológica (Figura 1 A, B) mostrou células controle intactas. O tratamento com a CI_{50} do óleo de *C. multijuga* (Figura 1 C–F, G-H) induziu perda de microvilosidades, pequenas rupturas de membrana e alterações morfológicas, efeito que foi intensificado com a dose de 2×CI_{50}(Figura 1 E-F, I-J).

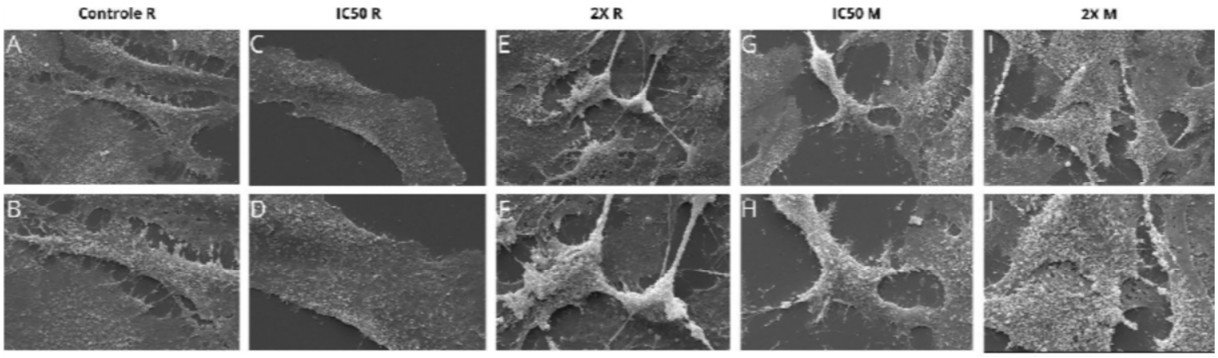


Figura 1. Microscopia eletrônica de varredura de células HeLa tratadas e não tratadas.

A avaliação da integridade da membrana (Figura 2 A, B) indicou que o óleo de *C. multijuga* aumentou significativamente a captação de iodeto de propídio nas concentrações de CI_{50} (49,17 µg/mL; $p \leq 0,05$) e $2\times CI_{50}$ (98,34 µg/mL; $p < 0,001$). Para o óleo de *C. reticulata*, esse efeito ocorreu apenas em $2\times CI_{50}$ (125,68 µg/mL; $p < 0,0001$), sem alteração significativa em CI_{50} (62,84 µg/mL). Quanto ao tamanho celular (Figura 2 C, D), ambas as espécies reduziram significativamente o volume celular em CI_{50} e $2\times CI_{50}$ ($p < 0,001$ e $p < 0,0001$), com efeito equivalente ao controle positivo Act D.

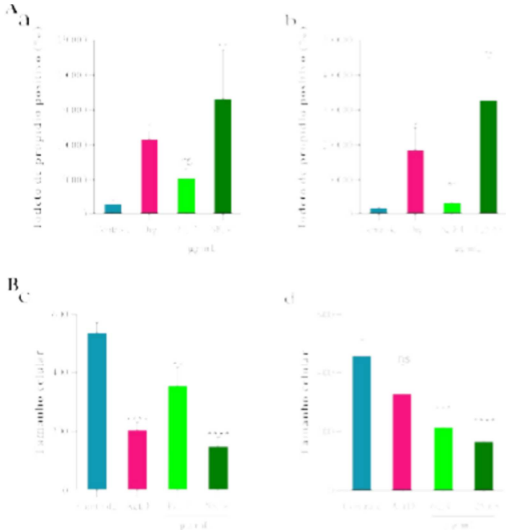


Figura 2. (A) Determinação da integridade de membrana pelo marcador iodeto de propídio. (a) *C. multijuga* (b) *C. reticulata*. (B) Determinação do tamanho celular. (c) *C. multijuga* (d) *C. reticulata*.

Corroborando com pesquisas de Jlizi, compostos lipofílicos desorganizam membranas tumorais (JLIZI *et al.* 2021). Os dados obtidos nesta pesquisa sugerem que o óleo de copaíba induziu citotoxicidade e danos na membrana das células HeLa, destacando-se como candidato contra o câncer do colo do útero.

CONCLUSÕES

O óleo de copaíba demonstrou atividade citotóxica seletiva às células de câncer cervical HeLa, promovendo danos à integridade da membrana plasmática e alterações

morfológicas. Esses achados indicam que o composto pode ser um promissor candidato para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra o câncer do colo do útero.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá, ao CNPq e ao Laboratório de Inovação Tecnológica em Fármacos e Cosméticos (LITFaC).

REFERÊNCIAS

DIEFENBACH, Ana Lucia et al. Antimicrobial activity of copaiba oil (Copaifera ssp.) on oral pathogens: Systematic review. **Phytotherapy Research**, v. 32, n. 4, p. 586-596, 2018.

FRIGO, Letícia Fernandez; ZAMBARDA, Simone de Oliveira. Câncer do colo de útero: efeitos do tratamento. **Cinergis**, v. 16, n. 3, p. 164-8, 2015.

INCA. Instituto Nacional de Câncer. **Câncer do colo do útero**. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos/colo-do-utero>

JLIZI, Salma et al. Chemical composition and cytotoxic activity of the fractionated trunk bark essential oil from Tetraclinis articulata (Vahl) Mast. growing in Tunisia. **Molecules**, v. 26, n. 4, p. 1110, 2021. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7922514/

OMS. Organização Mundial da Saúde. **Câncer.** Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1>

OPAS. Organização Pan-americana de saúde. **Câncer.** Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/cancer>

ZANI, Aline Pinto et al. Dibenzylideneacetone induces apoptosis in cervical cancer cells through Ros-mediated mitochondrial damage. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, p. 317, 2023.