

Artigo Original

Avaliação da composição química de um óleo de copaíba (*Copaifera spp.*) e seu efeito em células-tronco mesenquimais*Evaluation of the chemical composition of a copaiba oil (Copaifera spp.) and its effect on mesenchymal stem cells***Natasha Maurmann^{1,2a*}, Daniela Guerra Lund^{1a}, Daniela Pavulack Pereira^{1,3}, Patricia Pranke^{1,2,4}**

Maurmann N, Lund DG, Pereira DP, Pranke P. Avaliação da composição química de um óleo de copaíba (*Copaifera spp.*) e seu efeito em células-tronco mesenquimais / *Evaluation of the chemical composition of a copaiba oil (Copaifera spp.) and its effect on mesenchymal stem cells*. Rev Med (São Paulo). 2022 set.-out.;101(5):e-185868.

RESUMO: A oleoresina obtida de copaíferas é amplamente utilizada na medicina tradicional brasileira. Este estudo avaliou a composição química por Cromatografia Gasosa (CG) e o efeito da oleoresina de *Copaifera officinalis* em células-tronco. Para isso as células foram tratadas com a oleoresina nas concentrações de 0,5, 20, 110, 140, 170 ou 200 µg/ml por 24h. A avaliação por CG identificou os sesquiterpenos β-cariofileno, trans-α-bergamoteno e óxido de cariofileno II como os compostos majoritários da oleoresina. As menores concentrações de oleoresina utilizadas apresentaram resultados semelhantes ao grupo controle e as maiores concentrações diminuíram significativamente a viabilidade celular e apresentaram maior citotoxicidade. Como conclusão, os principais componentes encontrados na oleoresina de copaíba foram os sesquiterpenos e as baixas concentrações testadas não foram citotóxicas. O aumento das concentrações de oleoresina de copaíba promoveu diminuição da viabilidade celular e aumento dos efeitos citotóxicos nas células-tronco. Embora a oleoresina de copaíba tenha uso etnofarmacológico na cicatrização, este estudo demonstrou efeito citotóxico em células-tronco, as quais estão relacionadas ao processo de regeneração corpórea. Portanto, deve-se ter cuidado com a dosagem de oleoresina a ser utilizada, uma vez que este estudo *in vitro* mostrou citotoxicidade e um impacto negativo na viabilidade das células-tronco nas mais altas concentrações testadas.

Palavras-chave: Células-tronco; Células estromais; Etnofarmacologia; Medicina tradicional; Plantas; Sesquiterpenos; Técnicas *in vitro*; Toxicidade.

ABSTRACT: Oleoresin obtained from *Copaifera* trees is extensively used in Brazilian traditional medicine. This study has evaluated the chemical composition and effect of *Copaifera officinalis* oleoresin on stem cells. The oleoresin was analyzed by Gas Chromatography (GC) and the cells were treated with the oleoresin at concentrations of 0.5, 20, 110, 140, 170 or 200 µg/ml for 24h for cellular tests. GC identified the sesquiterpenes β-caryophyllene, trans-α-bergamotene, and caryophyllene oxide II as the main compounds in oleoresin. The cell viability and cytotoxicity assays showed the lowest concentrations of oleoresin used presented similar results to the control group and the higher concentrations tested significantly decreased cell viability and increased cytotoxicity. In a conclusion, the main components found in copaiba oleoresin were sesquiterpenes and the low tested concentrations were not cytotoxic. The increased concentrations of copaiba oleoresin promoted a decrease in cell viability and an increase of cytotoxicity in the stem cells. Although copaiba oleoresin has ethnopharmacology use in healing, this study showed toxicity in stem cells, which are related to the corporeal regeneration process. Therefore, caution must be taken with the dosage of the oleoresin to be used since this *in vitro* study showed cytotoxicity and a negative impact on stem cell viability at the higher tested concentrations.

Keywords: Ethnopharmacology; In vitro techniques; Plants, Sesquiterpenes, Stem cells, Stromal cells, Traditional medicine, Toxicity

^a Estes autores contribuíram igualmente para este trabalho.

1. Laboratório de Hematologia e Células-Tronco, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil. natasha.maurmann@ufrgs.br, <https://orcid.org/0000-0001-5103-6394>; dguerrallund@yahoo.com.br, <https://orcid.org/0000-0003-3926-8664>.
2. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.
3. Programa de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSA), Porto Alegre, RS, Brasil. pavulack@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-2904-7852>.
4. Instituto de Pesquisa com Células-tronco (IPCT), Porto Alegre, RS, Brasil. patriciapranke@ufrgs.br, <https://orcid.org/0000-0003-4698-6314>.

Endereço completo para correspondência: Natasha Maurmann. Av. Ipiranga, 2752/304G. Porto Alegre, RS, Brasil. CEP 90610-000.

INTRODUÇÃO

Desde o século XVI, tem sido relatado o uso do óleo-resina do gênero *Copaifera* pelos índios da Amazônia do Brasil para o tratamento de doenças¹. Em 1832, Russell publicou um artigo referindo-se ao bálsamo de copaíba (resina e óleo essencial), com usos benéficos para pacientes em estágios agudos de gonorreia². Atualmente, a oleorresina de copaíba (popularmente chamada de óleo de copaíba) é administrada por via tópica e oral por indígenas da Amazônia brasileira para diversos fins terapêuticos, como anti-inflamatório, anticoncepcional, antitumoral, antisséptico, anti-helmíntico e para tratamento da dor, infecções na pele, mucosas e doenças respiratórias e urinárias, cistite, sífilis, gonorreia, entre outras^{1,3}. A oleorresina é extraída através de orifícios feitos nos troncos de muitas espécies de *Copaíba* nativas da Amazônia na América do Sul e na África. A oleorresina de copaíba é composta principalmente por uma fração sólida não volátil contendo ácidos diterpênicos (55-60% do óleo) e, uma fração volátil, composta por hidrocarbonetos sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados, cujas proporções podem diferir qualitativa e quantitativamente de acordo com a espécie e condições edafoclimáticas⁴. Atualmente, produtos fitoterápicos derivados do óleo de *Copaíba* podem ser encontrados em mercados e drogarias de diversos países, associados a uma grande variedade de aplicações⁵. Popularmente, o óleo de copaíba é empregado para fins anti-inflamatórios, antissépticos, cicatrizantes e para massagem. Na odontologia, investigações aprovam seu uso em composições de cimento endodôntico, devido ao importante efeito antimicrobiano sobre as bactérias que formam a placa dental. Os usos recomendados incluem

compressas, gargarejos ou a ingestão de 1 gota para cada 100mL de líquido. A maioria das patentes encontradas relacionadas aos derivados de copaíba está associada à área de microbiologia mas não foram encontrados estudos sobre citotoxicidade.

Enquanto muitas plantas apresentam efeitos farmacológicos interessantes, algumas podem produzir substâncias tóxicas que afetam os órgãos. Estudos de copaíba precisam ser desenvolvidos para identificar compostos individuais de extratos vegetais para permitir o uso seguro desses extratos, bem como sua finalidade e comercialização. Portanto, considerando que, embora o óleo-resina de copaíba seja amplamente utilizado na medicina popular, seus efeitos celulares ainda não foram avaliados.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi identificar os principais compostos e avaliar o efeito da oleorresina de copaíba na viabilidade e citotoxicidade celular utilizando células-tronco/estromais mesenquimais (CTM).

MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra vegetal utilizada consistiu em oleorresina extraída do caule de *Copaifera officinalis*, adquirida da BioTae Extratos Botânicos Ltda. (São Paulo, Brasil). Os relatórios de controle de qualidade fornecidos pelo fornecedor indicam testes realizados de acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª Edição. Os reagentes e equipamentos utilizados nos testes celulares estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Reagentes (catálogo e marca) e equipamentos (modelo e marca) utilizados na cultura e caracterização de células-tronco mesenquimais

Reagente	Catálogo	Marca
Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT)	M2128	Sigma-Aldrich
3-Isobutil-1-Metilxantina (IBMX)	I7018	Sigma-Aldrich
Ácido 4-(2-hidroxietil)piperazina-1-etanossulfônico (HEPES)	H4034	Sigma-Aldrich
Azul de Alciano 8GX	A5268	Sigma-Aldrich
Alizarina Vermelha S	A5553	Sigma-Aldrich
Beta glicerofosfato	G9422	Sigma-Aldrich
CD105 (CD105 anti-humano conjugado com APC)	17-1057-42	Invitrogen
CD14 (CD14 de camundongo anti-humano conjugado com FITC)	555397	Becton Dickinson (BD) Phamingen™
CD34 (CD34 de camundongo anti-humano conjugado com PE)	555822	Becton Dickinson (BD) Phamingen™
CD45 (CD45 de camundongo anti-humano conjugado com FITC)	555482	Becton Dickinson (BD) Phamingen™
CD73 (CD73 de camundongo anti-humano conjugado com PE)	550257	Becton Dickinson (BD) Phamingen™
CD90 (CD90- Thy-1 anti-humano conjugado com FITC)	11-0909-42	eBioscience
Dexametasona	D4902	Sigma-Aldrich
Dimetilsulfóxido (DMSO)	03014	Neon
Meio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) baixa glicose	D5523	Sigma-Aldrich

continua

Tabela 1. Reagentes (catálogo e marca) e equipamentos (modelo e marca) utilizados na cultura e caracterização de células-tronco mesenquimais *continuação*

Reagente	Catálogo	Marca
Soro Fetal Bovino (SFB)	F063	Cultilab
HLA-DR (HLA-DR de camundongo anti-humano conjugado com FITC)	555811	Becton Dickinson (BD) Phamingen™
Indometacina	I7378	Sigma-Aldrich
Insulina do Pâncreas Bovino	I6634	Sigma-Aldrich
Suplemento de meio líquido de insulina-transferrina-selenito de sódio (ITS)	I3146	Sigma-Aldrich
Ácido L-Ascórbico 2-Fosfato (ASAP)	A8960	Sigma-Aldrich
kit LDH	86-1/100	Labtest Diagnóstica SA
Óleo Vermelho O	O0625	Sigma-Aldrich
Penicilina/Estreptomicina	P4333	Sigma-Aldrich
Bicarbonato de Sódio	00658	Neon
Fator de Crescimento Transformador Humano Recombinante Beta 1 (Rh-TGF β 1)	11343161	ImmunoTools
Rosiglitazona	R2408	Sigma-Aldrich
Triton X-100	T8787	Sigma-Aldrich
Solução de tripsina EDTA	T4049	Sigma-Aldrich
Equipamento	Modelo	Marca
Analisador bioquímico	LabMax 560	Labtest Diagnóstica SA
Incubadora de CO ₂	RC03000T-5-ABC	Thermo Electron Corporation
Citômetro de fluxo	FACSAria III	Becton Dickinson
Espectrofotômetro de Microplacas	SpectraMax® 250	Molecular Device
Microscópio	Ti Eclipse	Nikon

Caracterização por Cromatografia Gasosa – Espectroscopia de Massa (CG-EM)

A oleorresina de copaíba autoclavada foi analisada por CG-EM utilizando um detector de espectro de massa Shimadzu GC17-A, QP-5000, em coluna capilar DB-5 MS, seguindo as diretrizes estabelecidas por Campos e colaboradores⁵. Nesta técnica a CG realiza a separação dos componentes de uma mistura gasosa e o MS realiza a identificação dos componentes químicos separados.

Isolamento, cultura e caracterização de células-tronco/estromais mesenquimais (CTM)

As CTM foram isoladas da polpa de dentes decíduos esfoliados humanos e cultivadas em DMEM de baixa glicose suplementado com 3,7 g/l de bicarbonato de sódio, 2,5 g/l de HEPES, 10% de SFB, 100 U/ml de penicilina e 100 µg/ml de estreptomicina (denominado meio de cultura de CTM) conforme descrito em estudos anteriores^{7,8}. A pesquisa foi aprovada pelo comitê de ética, após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Protocolo CAAE número 36403514.6.0000.5347).

As células foram caracterizadas como células-tronco por: 1) morfologia, 2) perfil imunofenotípico e 3) diferenciação celular⁸⁻¹⁰. A confirmação da morfologia da forma fibroblastoide das células-tronco foi realizada em

microscópio óptico. O perfil imunofenotípico foi avaliado por citometria de fluxo analisando a positividade para CD90, CD73 e CD105 e a negatividade para CD14, CD34, CD45 e HLA-DR. No ensaio de diferenciação celular *in vitro*, as células-tronco foram submetidas ao meio de indução até a diferenciação em osteoblastos, condrócitos e adipócitos. O meio de indução osteogênica consistiu meio de cultura de CTM suplementado com dexametasona (0,1 µM), ASAP (5 µM) e β -glicerofosfato (15 mM). Para a diferenciação condrogênica, meio de cultura de CTM foi suplementado com 10 ng/ml de TGF- β 1, 0,1 µM, dexametasona, 50 mM ASAP e 1x de ITS 100x. O meio de diferenciação adipogênica consistiu em meio de cultura de CTM suplementado com dexametasona (1 µM), insulina (10 µg/ml), indometacina (50 µM), rosiglitazona (1 µM) e IBMX (0,5 mM). Após cultivo nos meios de diferenciações por cerca de 1 mês, as células foram fixadas e coradas com vermelho de alizarina S para osteogênica; azul de alciano para condrogênica e óleo vermelho O para diferenciação adipogênica.

Tratamento celular com oleorresina de copaíba, ensaios de viabilidade celular (MTT) e Lactato desidrogenase (LDH)

Na 7ª passagem, 7.000 células foram semeadas em placas de cultura de 96 poços. Após a confluência, as

células-tronco (CT) foram tratadas com oleorresina de copaíba autoclavada a 0,5, 20, 110, 140, 170 ou 200 µg/ml dissolvidas em 1% de DMSO no meio de cultura de CTM. Estas concentrações foram escolhidas após testes piloto. O controle utilizado foi o veículo DMSO 1% dissolvido no meio de cultura. Foram realizados os testes de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) e lactato desidrogenase (LDH). Os ensaios de MTT e LDH foram utilizados para avaliar a viabilidade celular e citotoxicidade da oleorresina de copaíba, respectivamente.

O MTT é um reagente metabolizado por células vivas, sendo esse teste um ensaio de viabilidade celular. Após 24 horas, as células foram incubadas com 0,25 mg/ml de solução de MTT durante 4 horas a 37°C. Os cristais de formazan formados foram dissolvidos em 0,2 ml de DMSO e a absorbância foi medida em espectrofotômetro de microplacas, sendo os resultados calculados pela subtração da absorbância de 570 nm - 630 nm¹⁰. Os resultados do ensaio MTT foram expressos como a porcentagem de absorbância do controle do veículo (definido como 100%).

A LDH é uma enzima intracelular e sua presença no ambiente extracelular é indicativa de dano à membrana celular. A citotoxicidade foi medida no sobrenadante da cultura usando o ensaio de liberação de LDH de acordo com Maurmann et al.¹⁰. Como controle negativo, foram utilizadas células em condições normais de cultura e, como controle positivo, as células foram tratadas com Triton X-100 2% (v/v), por 10 minutos. Triton X-100 causa morte celular permitindo a liberação máxima de LDH. A medida foi realizada no equipamento Labmax 560 e os resultados foram utilizados diretamente conforme fornecidos no equipamento, expressos em atividade de LDH (U/l).

Análise Estatística

Os resultados de viabilidade celular e citotoxicidade foram apresentados como média e erro padrão da média (EPM). Foi utilizada a ANOVA de uma via seguida do teste Tukey com programa BioEstat. As diferenças significativas foram estabelecidas com $p \leq 0,01$.

RESULTADOS

B

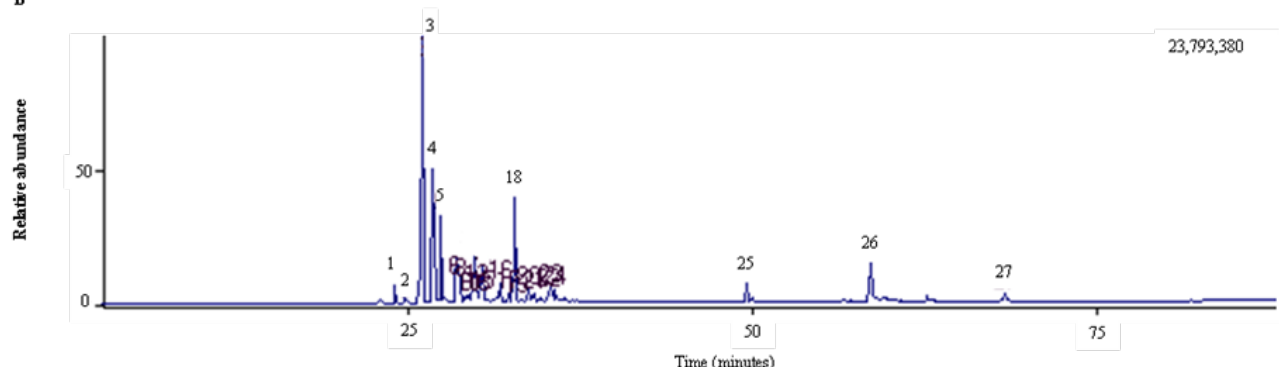


Figura 1. Composição química da oleorresina de copaíba identificada por CG-EM. A) Análise dos constituintes com nome, porcentagem, prevalência e número do pico. B) Cromatograma representativo dos picos detectados e descritos em 1A

Cromatografia Gasosa

A análise da oleorresina realizada por CG-EM detectou um total de 27 compostos. Os principais componentes encontrados foram beta-cariofileno (37,0%, pico número 3), trans-alfa-bergamoteno (12,0%, pico número 4), óxido de cariofileno II (10,5%, pico número 18) e alfa-humuleno (7,2%, pico número 5). A Figura 1 detalha a porcentagem e ordem de prevalência dos compostos (Figura 1A), e o cromatograma indicando os picos de sesquiterpenos (Figura 1B).

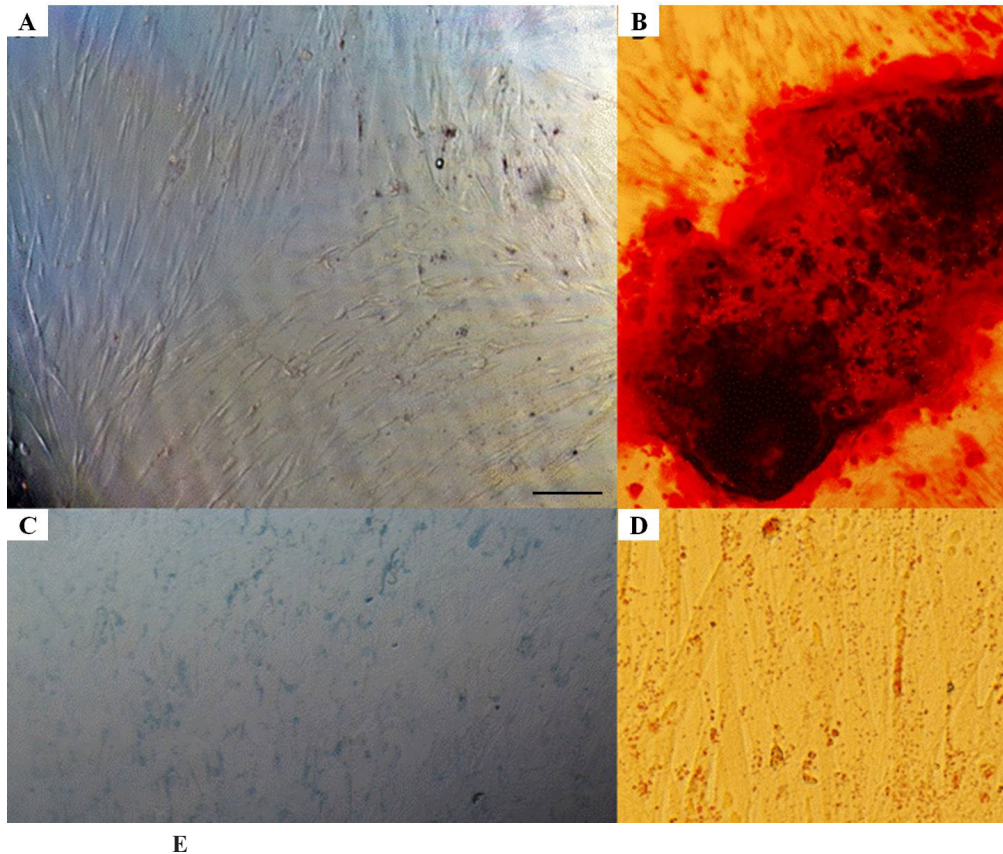
Nº do pico	Composto	%	Prevalência
1	alfa-copaeno	1,45	12
2	beta-cubebeno	0,09	27
3	beta-cariofileno	37,03	1
4	trans-alfa-bergamoteno	12,03	2
5	alfa-humuleno	7,17	4
6	gama-muuroleno	1,87	9
7	germacreno D	3,49	7
8	não identificado	1,73	11
9	viridifloreno	0,47	22
10	alfa-muuroleno	0,34	23
11	beta-bisaboleno	3,85	6
12	gama-cadineno	1,41	13
13	(Z)-gama-bisaboleno	0,11	26
14	delta-cadineno	3,14	8
15	beta-sesquifelandreno	0,33	24
16	germacreno B	1,28	15
17	álcool cariofileno	0,68	19
18	óxido de cariofileno II	10,48	3
19	não identificado	0,13	25
20	epóxido de humuleno II	0,99	17
21	não identificado	0,51	21
22	cubenol	1,02	16
23	alfa-muurolol	1,3	14
24	alfa-cadinol	0,87	18
25	manool	1,77	10
26	não identificado	5,91	5
27	não identificado	0,55	20

A

Caracterização das células-tronco

As células foram isoladas de dentes, cultivadas *in vitro* e caracterizadas como células-tronco mesenquimais (CTM) com sucesso. As células foram caracterizadas quanto à morfologia celular, aderência ao plástico, diferenciação *in vitro* e presença de marcadores de superfície detectados por citometria de fluxo, conforme estudos anteriores^{7,8,10}. As células apresentaram morfologia típica de CT (Figura 2A) e diferenciação (Figura 2B-D). Foram encontrados os padrões osteogênico, corado com

alizarina vermelha (Figura 2B), condrogênico, corado com azul de alciano (Figura 2C) e adipogênico, corado com óleo vermelho (Figura 2D). As características imunofenotípicas das CTM foram confirmadas por citometria de fluxo e mostraram que mais de 97% das células expressaram os marcadores positivos (o nível de pureza de MSC indicou que 2,2% da população de células não expressou CD105, 0,5% das células não expressaram CD90 e 100% das CTM expressaram CD73) e 0% para marcadores negativos (Figura 2E).



Marcador de superfície	Expressão (%)
CD73	100,0
CD90	99,5
CD 105	97,8
CD14	0,0
CD34	0,0
CD45	0,0
HLA-DR	0,0

Figura 2. Caracterização das células-tronco. A) Fotomicrografias do controle indiferenciado de células-tronco e culturas diferenciadas em (B) osteogênicas, coradas com vermelho de alizarina, (C) condrogênicas, coradas com azul de alciano e (D) adipogênicas, coradas com óleo vermelho. E) Caracterização imunofenotípica de CT por citometria de fluxo

Viabilidade celular e citotoxicidade

Os resultados da viabilidade celular são mostrados na Figura 3A. As menores concentrações de copaíba utilizadas (0,5–140 µg/ml) não diferiram do veículo controle na análise de MTT, embora 110 e 140 µg/ml tenham apresentado diminuição, mas não estatisticamente significativa. A faixa de 0,5 a 140 µg/ml abrange

concentrações baixas e médias testadas. Em concentrações acima de 170 e 200 µg/ml, as células não foram viáveis. Concentrações acima de 200 µg/ml também foram testadas e mantiveram resultados de viabilidade semelhantes a zero (dados não mostrados).

Os resultados de citotoxicidade, medidos pelo teste de liberação de LDH após 24 horas de tratamento com

oleorresina de copaíba, estão apresentados na Figura 3B. As concentrações mais baixas de oleorresina usadas (0,5-110 µg/ml) não diferiram do controle no ensaio de liberação de

LDH. As maiores concentrações testadas, 140 e 200 µg/ml, bem como o controle de morte, que representa a liberação máxima de LDH, promoveram aumento significativo da citotoxicidade ($p < 0,01$), em comparação ao controle.

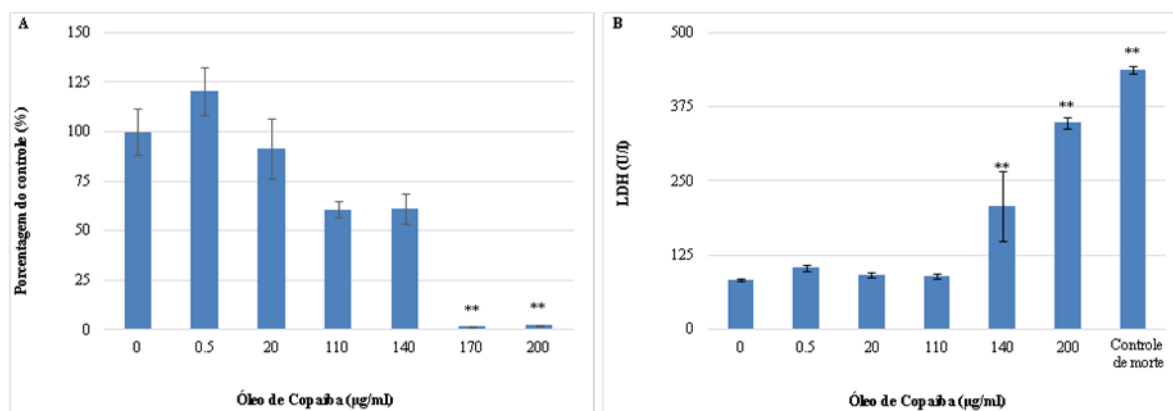


Figura 3. Testes celulares. A) Viabilidade por ensaio de MTT e B) citotoxicidade por dosagem de lactato desidrogenase (LDH) em CT tratadas com diferentes doses de oleorresina de copaíba por 24 horas. Controle de morte corresponde à liberação máxima de LDH com uso de Triton. MTT e LDH são representados como média $\pm$ EPM e ** representam um valor de $p < 0,01$, em comparação com o controle

DISCUSSÃO

Para curar e prevenir diversos tipos de doenças, as populações indígenas fazem uso de plantas, práticas aprendidas pelos ancestrais e que hoje são tradicionalmente passadas de geração em geração¹³. As plantas utilizadas pelos indígenas estão se tornando fonte de descoberta de novos medicamentos¹⁴. A oleorresina de *C. reticulata* é tradicionalmente utilizada pelos indígenas brasileiros para o tratamento de infecções de pele e trato urinário, doenças respiratórias, reumatismo, úlcera e tumores¹⁵.

Os sesquiterpenos podem representar cerca de 90% da composição de resinas/óleo de copaíba, mas diferem nas composições e concentrações de vários componentes em diferentes situações^{16,17}. Por exemplo, *C. reticulata* apresentou variação em sua composição entre a concentração de compostos químicos nas estações seca e chuvosa¹⁸. Um estudo recente com *C. reticulata* encontrou que as porcentagens de alguns componentes variaram entre diferentes árvores¹⁶. Dependendo dos componentes principais, os efeitos terapêuticos tendem a ser diferentes. Estudos indicam que as propriedades anti-inflamatórias estão relacionadas à presença de β -cariofileno^{16,17}. Outras atividades biológicas podem estar relacionadas à presença de diferentes moléculas em diferentes quantidades.

O sesquiterpeno β -cariofileno é usualmente o constituinte majoritário de *C. officinalis*, também considerado um marcador químico para as oleorresinas^{1,3}, e foi o composto majoritário no presente estudo. O β -bisaboleno, constituinte majoritário em amostras de *C. duckei* e *C. reticulata*, foi detectado na amostra estudada em menor porcentagem (3,85%). A oleorresina de *C. multijuga* revelou a presença predominante de cubenol

(16,7%), óxido de cariofileno (11,5%) e bisabolol (7%)¹¹. A amostra de óleo do presente trabalho apresentou teor semelhante de óxido de cariofileno II (10,5%), mas menor cubenol (1%) conforme tabela 2. Estudos sobre a oleorresina de copaíba obtida de *C. langsdorffii* mostraram altos níveis de trans- α -bergamoteno (21,3%) e β -bisaboleno (20,1%)¹², e o mesmo perfil foi detectado no presente trabalho (Tabela 2). Dentre as principais oleorresinas de copaíba descritas na literatura, o presente estudo também identificou α -copaeno, β -cariofileno, α -humuleno, trans- α -bergamoteno, β -bisaboleno e óxido de cariofileno. Entre os compostos descritos e não identificados aqui estão β -elemeno, α -selineno e β -selineno. Os resultados estão de acordo com a literatura, que relata uma grande variação na composição química das oleorresinas usualmente presentes em diferentes espécies de *Copaifera*.

Tabela 2. Comparação da porcentagem (%) de compostos encontrados em diferentes espécies de copaíba

	<i>C. multijuga</i> ¹¹	<i>C. officinalis</i> (trabalho atual)
Cubenol	16,7%	1%
Óxido de cariofileno	11,5%	10,5%
	<i>C. langsdorffii</i> ¹²	<i>C. officinalis</i> (trabalho atual)
Trans- α -bergamoteno	21,3%	12,0%
β -bisaboleno	20,1%	3,9%

Barbosa et al.¹⁵ encontraram valores de IC₅₀ citotóxicos *in vitro* variando entre 70 e 90 µg/ml de oleorresina de *C. reticulata* em linhagens celulares

cancerosas e não cancerosas. No presente estudo, a IC₅₀ foi superior a 140 µg/ml. Embora este estudo tenha demonstrado a morte de CTM, que são responsáveis pela regeneração de órgãos e tecidos, outros estudos indicam que o óleo de copaíba pode favorecer a regeneração. Um estudo de revisão encontrou que cinco experimentos *in vivo* envolvendo oleorresinas de *Copaifera* em modelos de cicatrização de feridas apresentaram melhores resultados clínicos¹. Portanto, algumas concentrações podem ter efeito positivo na cicatrização de feridas, efeitos antissépticos orais e anti-inflamatórios, o que justificaria seu uso etnofarmacológico. Sua ampla utilização na medicina popular para o tratamento de infecções de pele e afecções bucais também pode ser justificada pelos efeitos antimicrobianos da oleorresina, conforme demonstrado por Barbosa et al.¹⁵. As plantas são amplamente utilizadas na medicina, mas o equilíbrio entre os efeitos terapêuticos e toxicológicos precisa ser avaliado. Portanto, testes *in vitro* e *in vivo* são necessários para determinar os possíveis efeitos tóxicos das plantas utilizadas na medicina.

Embora a oleorresina de copaíba seja amplamente utilizada na medicina tradicional para diversas aplicações e formulações orais devido às suas propriedades cicatrizantes, antissépticas e anti-inflamatórias, até onde sabemos, este estudo é o primeiro a identificar a toxicidade da oleorresina de copaíba em células-tronco. Já foi descrito que o uso do bálsamo de copaíba deve ser controlado², pois pode causar efeitos colaterais adversos¹.

Agradecimentos: Os autores desejam agradecer ao Professor Eduardo Luís Konrath por sua assistência com Cromatografia Gasosa (CG).

Financiamentos: Este trabalho foi financiado pelas agências brasileiras: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS); Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC); Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Medicina Regenerativa (INCT-REGENERA CNPq 465656/2014-5); e Instituto de Pesquisa com Células-tronco (IPCT). NM agradece à FAPERGS/CAPES pela bolsa de pós-doutorado DOCFIX. As fontes de financiamento não tiveram envolvimento no desenho do estudo; na coleta, análise e interpretação dos dados; na redação do relatório; e na decisão de submeter o artigo para a publicação.

Conflito de interesses: Os autores não têm interesses concorrentes a declarar.

Contribuição dos autores: Lund DG: Conceituação; Metodologia; Redação - rascunho original; Análise. Maurmann N: Conceituação; Metodologia; Análise formal; Redação - revisão e edição do rascunho original. Pereira DP: Metodologia; Análise. Pranke P: Análise formal; Aquisição de financiamento; Redação - revisão e edição.

REFERENCIAS

- da Trindade R, da Silva JK, Setzer WN. *Copaifera* of the neotropics: A review of the phytochemistry and pharmacology. *Int J Mol Sci*. 2018;19(5):1511. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms19051511>
- Russell J. Essential oil of copaiba. *Lancet*. 1832;19(478):141. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)84967-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)84967-4)
- Leandro LM, De Sousa Vargas F, Barbosa PCS, Neves JKO, Da Silva JA, Da Veiga-Junior VF. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules*. 2012;17(4):3866-89. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules17043866>
- Veiga Junior VF, Pinto AC, Maciel MAM. Plantas medicinais: cura segura? *Quim Nova*. 2005;28(3):519-28. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026>
- Campos C, de Castro AL, Tavares AMV, Fernandes RO, Ortiz VD, Barboza TE, et al. Effect of free and nanoencapsulated copaiba oil on monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2017;69(2):79-85. doi: <https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000442>
- Valadas LAR, de Oliveira-Filho RD, de Oliveira MBL, de Mello Fiallos AC, Lotif MAL, de França Fonteles MM, et al. Products of dental use containing copaiba oil-resin: technological prospecting based on patents. *Recent Pat Biotechnol*. 2020;14(1):33-40. doi: <https://doi.org/10.2174/1872208313666190719153114>

7. Nicola F, Marques MR, Odorcyk F, Petenuzzo L, Aristimunha D, Vizuete A, et al. Stem cells from human exfoliated deciduous teeth modulate early astrocyte response after spinal cord contusion. *Mol Neurobiol*. 2018;56:748-60. doi: <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1127-4>
8. dos Santos FP, Peruch T, Katami SJV, Martini APR, Crestani TA, Quintiliano K, et al. Poly (lactide-co-glycolide) (PLGA) scaffold induces short-term nerve regeneration and functional recovery following sciatic nerve transection in rats. *Neuroscience*. 2019;396:94-107. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.007>
9. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause DS, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315-7. doi: 10.1080/14653240600855905
10. Maurmann N, Pereira DP, Burguez D, de S Pereira FDA, Inforçatti Neto P, Rezende RA, et al. Mesenchymal stem cells cultivated on scaffolds formed by 3D printed PCL matrices, coated with PLGA electrospun nanofibers for use in tissue engineering. *Biomed Phys Eng Express*. 2017;3(4):045005. doi: <https://doi.org/10.1088/2057-1976/aa6308>
11. Vasconcelos KRF, Veiga Junior VF da, Rocha WC, Bandeira MFCL. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne. *Rev Bras Farmacogn*. 2008;18(supl.):733-8. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000500017>
12. Pieri F, Silva V, Vargas F, Veiga Junior V, Moreira M. Antimicrobial activity of *Copaifera langsdorffii* oil and evaluation of its most bioactive fraction against bacteria of dog's dental plaque. *Pak Vet J*. 2014;34(2):165-9. Disponível em: http://www.pvj.com.pk/pdf-files/31_3/192-194.pdf
13. Gaudêncio J, Paulo Jorge Rodrigues S, Martins DR, Silveira RMCF. Conhecimento tradicional Kaingang: o uso de ervas medicinais. *ODEERE*. 2021;6(2):35-53. doi: <https://doi.org/10.22481/odeere.v6i2.9793>
14. Yadav SS, Singh MK, Singh PK, Kumar V. Traditional knowledge to clinical trials: A review on therapeutic actions of *Embllica officinalis*. *Biomed Pharmacother*. 2017;93:1292-302. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.065>
15. Barbosa ALP, Wenzel-Storjohann A, Barbosa JD, Zidorn C, Peifer C, Tasdemir D, et al. Antimicrobial and cytotoxic effects of the *Copaifera reticulata* oleoresin and its main diterpene acids. *J Ethnopharmacol*. 2019;233:94-100. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.11.029>. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.11.029>
16. Costa A da S, Lameira OA. Estudo fitoquímico do oleoresina extraído da *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae-Caesalpinioideae) em uma área de manejo sustentável. *Res Soc Dev*. 2021 Dec 9;10(16):e154101622305. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22305>. doi: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i16.22305>
17. Lima MCF, Silva LS, Veiga Junior VF, Wiedemann LSM. Quantificação do β -cariofileno e óxido de cariofileno para o controle de qualidade dos óleos de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). *Brazilian J Dev*. 2020;6(1):608-23. Disponível em: <http://www.brjd.com.br/index.php/BRJD/article/view/5898/5287>. doi: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n1-043>
18. Pinto, I. F., Oliveira ECP, Oliveira RC, Rebelo SL, Silva AS. Análise química do óleo-resina de *Copaifera reticulata* Ducke proveniente de coletas sazonais da floresta nacional do tapajós, PA. In: VII Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais (SBOE), Santarém, PA; 15-18 out. 2013. Santarém, PA: UFOPA; 2013. Disponível em: http://www.infobibos.com/anais/sboe/7/Resumos/Resumo7SBOE_116.pdf

Recebido: 17.05.2021

Aceito: 20.06.2022