

CONIC-SEMESP

13º Congresso Nacional de Iniciação Científica

Anais do Conic-Semesp. Volume 1, 2013 - Faculdade Anhanguera de Campinas - Unidade 3. ISSN 2357-8904

TÍTULO: AVALIAÇÃO IN VITRO DA AÇÃO DO ÓLEO IN NATURA DA COPAIFERA RETICULATA DUCKE SOBRE COLÔNIAS FÚNGICAS DE CANDIDA ALBICANS.

CATEGORIA: CONCLUÍDO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: MEDICINA VETERINÁRIA

INSTITUIÇÃO: CENTRO UNIVERSITÁRIO ANHANGUERA

AUTOR(ES): PÚBLIO SANTOS DOMINGUES, GILSON LIMA VIEIRA FILHO

ORIENTADOR(ES): HEROS JOSÉ MÁXIMO

COLABORADOR(ES): JOSÉ ALVES LAMEIRA, TATIANA RANIERI

Realização:



Apoio:



1. RESUMO

A copaíba é vastamente utilizada pelos seus princípios anti-inflamatórios e cicatrizantes. Seu óleo é considerado um exsudado do tronco de suas árvores e em alguns óleos, foi encontrado ácido caurenóico a quem é atribuída à atividade antimicrobiana. Certos de que células vegetais podem ser capazes de reagir a determinadas patogenicidades, visto que algumas são menos tóxicas, as substâncias tendo então eficiência em tecidos vegetais podem ter eficiência também em tecidos animais. O óleo de copaíba demonstra potencial antifúngico, inibindo proporcionalmente pela concentração do óleo-resina. Assim buscou a análise do óleo *in natura* da *Copaifera reticulata* Ducke *in vitro* em sua ação fungicida quanto ao desenvolvimento de *Candida Albicans*, que mostrou em ágar sangue atividade antifúngica e fungistática.

2. INTRODUÇÃO

As copaíbas, árvores de origem na América Latina e África Ocidental, são conhecidas como copaibeiras ou pau d'óleo e são abundantemente encontradas nas regiões brasileiras norte e centro-oeste (VEIGA *et al.*, 2002). Na classificação botânica está na família *Leguminosae*, subfamília *Caesalpinoideae*, gênero *Copaifera*, (Lloyd, 1898 apud in Pieri *et al.* 2009; Veiga Junior *et al.*, 2005). Pieri *et al.* (2009) ainda relata que segundo o *Index Kewensis* (1996) existem setenta e duas espécies descritas e dezesseis encontradas apenas no Brasil conforme Veiga Junior & Pinto (2002).

Critérios relevantes e importantes, tal como a técnica de extração, material botânico e as diferenças genéticas da espécie podem modificar a atividade medicinal do óleo (MENEZES *et al.*, 2009). Resultado de excreção ou desintoxicação do vegetal o óleo funciona como defesa da planta contra fungos, bactérias e animais (PONTES *et al.*, 2003). O óleo de copaíba obtido a partir do gênero *Copaifera*, tem sido usado como anti-inflamatório prescrito por médicos tradicionais da Amazônia e esteve no passado nas farmacopeias da Europa e América do Norte (VEIGA JÚNIOR *et al.* 2007). As indicações do óleo são as mais variadas, segundo Veiga (2002) tendo ação nas vias urinárias e respiratórias, nas infecções da pele e das mucosas.

Em alguns óleos, foi encontrado ácido caurenóico a quem é atribuída a atividade antimicrobiana (VEIGA *et al.*, 1997), certos de que células vegetais podem ser capazes de reagir a determinadas patogenias, observando que algumas são menos tóxicas (DEUS, *et. al.* 2009), segundo Santos (1996) as substâncias tendo então eficiência em tecidos vegetais podem ter eficiência também em tecidos animais. Estudos com a *C. reticulata*, estimularam o seu potencial tóxico, onde foram determinadas as doses a serem utilizadas; não foram verificadas nem morbidade nem mortalidade em nenhum dos animais usados para o teste até a dosagem de 2000 mg/kg, não apresentando efeitos como os de nefrotoxicidade e hepatotoxicidade e nem efeitos neurotóxicos e pode ser utilizada como agente terapêutico (SACHETTI, *et. al.* 2009).

Investigações das composições químicas e atividade antiinflamatória obtidas das *Copaifera multijuga* Hayne, *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke e espécie *Copaifera reticulata* Ducke no experimento de Veiga Júnior *et al.* (2007), provaram que mesmo semelhantes, os óleos possuem composição variada e atividade anti-inflamatória; por cromatografia gasosa observou-se que o composto principal entre os sesquiterpenos que a compõe foi o beta-cariofileno em todas a espécies estudadas, com maior concentração na *C. reticulata* Ducke, seguindo o alfa-humuleno, alfa-copaeno, alfa-bergamoteno e delta-cadineno, com diferentes quantidades em cada óleo-resina; entre os diterpenos, o ácido copálico foi encontrado em todas os óleo-resinas, já os ácidos caurenóico e kolavenic predominaram na espécie *Copaifera reticulata* Ducke.

O óleo de copaíba demonstra potencial antifúngico, inibindo proporcionalmente pela concentração do óleo-resina, podendo ser usado como agente de controle biológico do crescimento micelial de fitopatógenos (LAMEIRA, 2007). Em meio de cultivo, os fungos podem ser diferenciados em dois tipos de colônias: as leveduriformes e filamentosas (TRABULSI, *et. al.* 2008). Afirma-se que o óleo de copaíba apresenta atividade microbiana a diversos microrganismos patógenos (MENDONÇA, *et. al.* 2009) e por isto este trabalho procura avaliar *in vitro* a capacidade do óleo de copaíba (*C. reticulata* Ducke) *in natura* contra o patógeno comum a animais e seres humanos, a levedura *Candida albicans*.

Em função do desequilíbrio parasita-hospedeiro, as leveduras de *Candida* sp. que sobrevivem no meio ambiente como sapróbias, através de alterações na defesa imunológica do portador ou pela fragilidade das barreiras de proteção podem ter o seu potencial patogênico manifestado; dados pela capacidade de desenvolver-se a 37° C, além do pleomorfismo que as oferecem facilidade por sua capacidade de invasão tecidual (BRITO, et. al. 2009). Quando há presença de fungos no sangue chamamos a isso de fungemia (SILVA, et. al. 2006) e as infecções do sangue causadas por *Candida* sp., por sua relevância clínica, são denominadas candidemia ou candidíase hematogênica, definida quando na corrente sanguínea o fungo espalha-se para um ou mais órgãos do paciente acometido da infecção (COLOMBO, et. al. 2003).

Portanto, a procura por antifúngicos de origem vegetal se dá com grande potencial pela capacidade de reação das células vegetais com os patógenos, podendo ser melhores no tratamento das infecções micóticas, sendo menos tóxicos aos pacientes (DEUS, et. al. 2009).

3. OBJETIVOS

Por ser a *Candida albicans* encontrada em inúmeros tratos como parte da microbiota, sabemos das dificuldades para o seu controle quando em proliferação exagerada e pode desenvolver-se em meios biológicos como o sangue, como foi apresentado em trabalhos de hemocultivo pesquisados. Foi por este motivo que além do meio de cultivo específico para fungos, o Ágar Sabouraud, decidiu-se pelo o uso de um segundo meio de cultivo, o Ágar Sangue, pois a *Candida albicans* pode mostrar seu comportamento e atividade hemolítica neste meio de cultura. Uma vez que o óleo tenha ação efetiva contra a *Candida albicans*, nos oferece uma alternativa barata e eficaz para o tratamento de inúmeros e diferentes casos de candidíases.

4. METODOLOGIA

O experimento foi realizado no Laboratório de Microbiologia da Universidade Anhanguera, no Campus da cidade de Leme-SP. A cepa da *Candida albicans* (NEWP 0031) foi ativada em caldo BHI, depois semeada em ágar Sabouraud para

então ser replicada. O óleo de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke) com o número da Exsicata 183939 do Herbário IAN/EMBRAPA Amazônia Oriental é proveniente da Floresta Nacional dos Tapajós, no município de Belterra no estado do Pará, obtido através da EMBRAPA em 2011.

Foram utilizados dois protocolos experimentais que buscavam ou que pudessem propor a melhor avaliação da atividade do óleo nas placas de cultivo.

No primeiro modelo experimental, buscou-se a inclusão do meio de cultura ágar sangue, para analisar a resistência e atividade hemolítica da *C. albicans* frente à ação do óleo de copaíba como fungicida ou fungistático. Da levedura, usou-se a diluição de 0,5 segundo McFarland e sua escala nefelométrica em solução salina para a semeadura com swab, pela técnica de esgotamento. Foram usadas um total de 76 placas, que foram divididas em 4 grupos. Cada grupo continha 19 placas, 15 foram semeadas para serem usadas para os tratamentos, enquanto cada grupo controle foi estabelecido com uma placa contendo apenas ágar, outra com somente óleo, uma com ágar e óleo e outra contendo apenas o microrganismo (*Candida albicans*). Um grupo contendo ágar Sabouraud e outro grupo com ágar Sangue foram depositados na estufa de crescimento microbiano a 37°C e um grupo com ágar Sabouraud e o outro com ágar Sangue seguiram para a estufa do tipo B.O.D. a 27°C.

Após 24 horas da semeadura, iniciaram-se os tratamentos com o óleo de copaíba da mesma maneira para os quatro grupos de placas. De cada grupo de 19, as 15 semeadas foram tratadas com o óleo de copaíba em diferentes dosagens. Com a ajuda de uma pipeta automática, cinco receberam 10µl, 5 receberam 50 µl e as outras 5 restantes receberam 100 µl. Da mesma maneira, o mesmo tratamento foi repetido em todas as placas, de todos os grupos seguidamente nas 48 e 72 horas a partir da primeira aplicação.

O segundo protocolo experimental buscou a inclusão do óleo ao meio de cultivo. Para a preparação das placas que haveriam de conter ágar Sabouraud foram preparados 3 erlenmeyer de 250 ml cada, dos quais foram respectivamente adicionados de 5, 7 e 10% do óleo de copaíba *in natura* homogeneizados no próprio erlenmeyer no momento do emplacamento buscando uma aproximada concentração do óleo nas placas, 4 para cada concentração, assim como 2 grupos controle

estabelecidos por uma placa contendo apenas ágar, outra com somente óleo, uma com ágar e óleo e outra contendo apenas o microrganismo (*Candida albicans*). Oito placas foram preparadas para cada concentração, quatro seguiram para a estufa a 37°C E 4 para a estufa BOD 26°C cada grupo com seu controle.

Para a preparação das placas de ágar sangue, o óleo foi misturado previamente no sangue que seria usado para a incorporação ao meio de cultivo nas concentrações desejadas de 5, 7 e 10% do óleo da *Copaifera reticulata* Ducke. Dois grupos controle foram formados cada por uma placa contendo apenas ágar, outra com somente óleo, uma com ágar e óleo e outra contendo apenas o microrganismo (*Candida albicans*). 8 placas foram preparadas para cada concentração, quatro seguiram para a estufa a 37°C E 4 para a estufa BOD 26°C cada qual com seu grupo com seu controle.

5. DESENVOLVIMENTO

Desde o início dos estudos a preocupação consistiu no risco de contaminação das placas por outros microrganismos que pudessem alterar o comportamento da levedura em cultivo, assim como também se preocupou com a melhor maneira para observar a ação do óleo nos meios Sabouraud e sangue com o objetivo de realizar a homogeneização das concentrações aplicadas nas placas sem o uso de solventes que pudessem alterar a composição química do óleo de maneira a interagir com o fármaco levando e proporcionando resultados duvidosos não desejados.

No primeiro protocolo, foram depositados em 24, 48 e 72 horas as quantidades pré-estabelecidas para o tratamento da levedura nas placas dos dois meios, os resultados não eram ruins quanto à ação do óleo. Foi verificado que depois da primeira aplicação, as colônias estagnaram seus crescimentos, mas havia uma forte impregnação do bálsamo, isso pela quantidade usada no tratamento após as 72 horas, que poderia estar influenciando os resultados, de forma que estava se sobrepondo as colônias, o que poderia também interferir no dimorfismo da levedura nas suas formas saprófita e leveduriformes, definidas pela concentração de Oxigênio e temperatura as quais foram encubadas, 26°C e 37°C na BOD e estufa de crescimento microbiano, respectivamente.

No segundo protocolo experimental, se buscou a diluição do óleo no momento do emplacamento. Em Sabouraud, sem o uso de um diluente a concentração das placas não foi confiável, a homogeneização ocorreu pela mistura a próprio punho nos erlenmeyer. No ágar sangue, usamos a tentativa de diluição do óleo *in natura* diretamente no sangue usado na preparação do ágar. Uma vez que as células animais são dotadas de membranas lipossolúveis, imaginou-se que esta diluição seria possível, o que de fato ocorreu. Assim, foi possível de maneira mais eficiente adequar a concentração do óleo de copaíba apenas nas placas de ágar sangue, meio de cultivo não específico para fungos, mas que possibilita a visualização de atividade hemolítica dos microrganismos.

6. RESULTADOS

No primeiro protocolo, as análises foram feitas por microscopia óptica e estereoscópica diariamente por três dias após a primeira dose do tratamento. Foi possível observar macroscopicamente que os cultivos realizados e encubados na estufa do tipo B.O.D. não apresentaram alteração de comportamento. As colônias se desenvolveram dentro das primeiras 24 horas tanto em ágar Sangue quanto Sabouraud e mantiveram-se em crescimento mesmo depois da primeira aplicação do óleo sobre as leveduras.

Em relação às placas mantidas a 37°C, as que tinham sido cultivadas em ágar Sabouraud permaneceram se desenvolvendo conforme se encontrava o microrganismo na placa do grupo controle, mesmo após os três dias de tratamento. Não sugerindo nenhuma ação fungicida para o óleo frente à mudança de temperatura para o mesmo meio de cultivo. Já as placas cultivadas em ágar sangue, tanto na estufa a 37°C, as colônias mantiveram-se na mesma quantidade de quando o tratamento fora iniciado e menor ainda do que as colônias do grupo controle, dos quais as placas não receberam o óleo como terapia. Sendo assim, não houve possibilidade verificação de atividade fungicida nas quantidades de óleo usadas nessas placas. Sugere-se pelas observações que o óleo quando aplicado sobre *Candida albicans* nessas condições de cultivo detém de ação fungistática. As vantagens no uso do óleo *in natura* da *Copaifera Ducke in vitro* mostraram que eram satisfatórias apenas por sua característica inibitória ou fungistática frente a *C. albicans*. As análises feitas a partir de microscopia estereoscópica revelaram que as

colônias mesmo vivas após o tratamento, apresentaram inibição do crescimento a partir da primeira dose do óleo em 10 µl, 50 µl e 100 µl, mantendo-se cada placa com o mesmo número e tamanho das colônias que desde o primeiro dia de tratamento com 10 µl (figura 1), 50 µl e 100 µl.

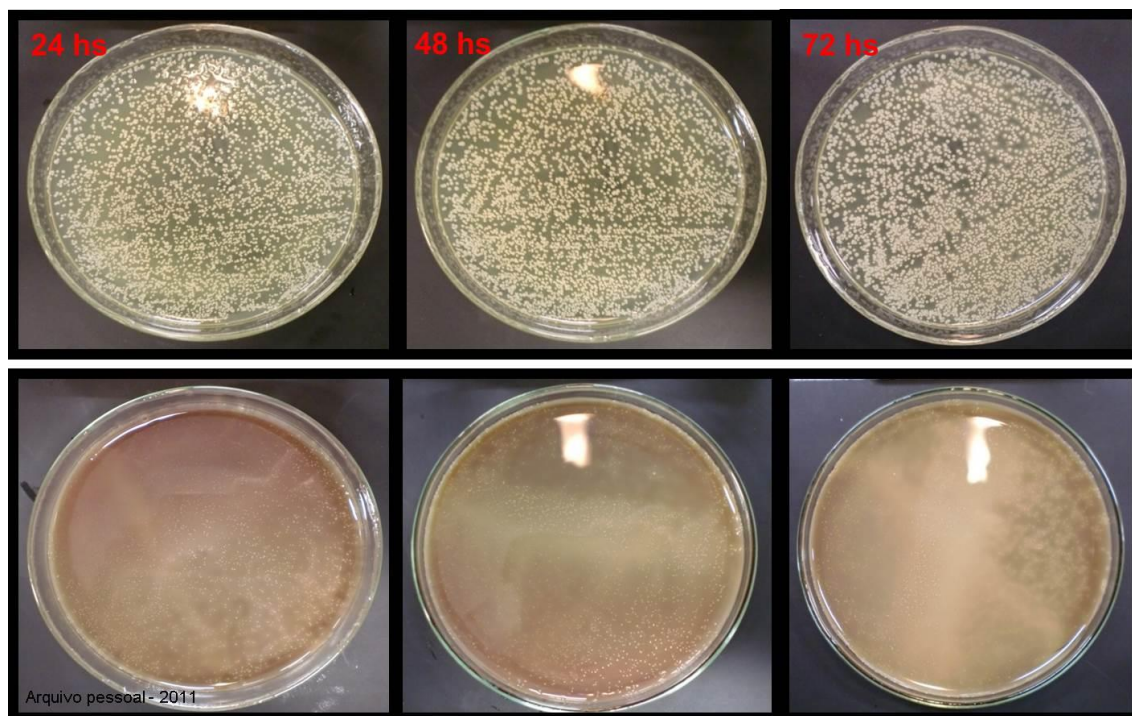


Figura 1: Placas com culturas de *C. albicans* em Ágar Sabouraud e Sangue, em estufa de crescimento microbiano (37°C), após tratamento com 10 µl do óleo *in natura* da *Copaifera reticulata* Ducke.

O segundo modelo experimental, mostrou que em todas as concentrações do óleo em ágar Sabouraud tanto a 26 ou 37°C não foram suficientes para inibir ou estagnar o crescimento das colônias. O que não foi o mesmo ocorrido com as placas de *C. albicans* em ágar sangue; na estufa a 37°C as placas adquiriram coloração amarelada, talvez pela interação do meio aos compostos químicos do óleo e interação com a temperatura, mas mesmo assim colônias não foram observadas nas placas em nenhuma das concentrações usadas do óleo *in natura* da *Copaifera reticulata* Ducke, enquanto que nas placas de ágar sangue, encubadas a 26°C as placas com concentração de 5% não alteraram significativamente a cor inicial do meio de cultivo, e nestas o microrganismo desenvolveu-se assim como no controle com a placa sem o bálsamo. As placas com concentração de 7% e 10 % de óleo não apresentaram colônias, mas tiveram a cor das placas alteradas, talvez justificada pela alteração do pH, uma vez que o óleo é formado por vários ácidos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluiu-se que em Ágar Sangue, após deposição de óleo, ocorrem mudanças na coloração do meio, após o tratamento com 24, 48 e 72 horas o óleo apresentou propriedades fungistáticas e na incubação com o óleo adicionado ao meio, também ocorrem modificações na sua coloração que de vermelha passa a amarelada, nelas também não houve crescimento das colônias semeadas nas placas de ágar Sangue a 37 e a 26°C nas concentrações de 5, 7 e 10% na estufa e a 7 e 10% na BOD.

Pela diluição imprecisa do óleo de copaíba no meio Sabouraud, os resultados da avaliação do óleo não foram os esperados, mas serviram para mostrar que em meio adequado, mesmo seguido de alterações como pH, temperatura e concentração do bálsamo *in natura*, a *Candida albicans* é capaz de se estabelecer. Trazendo assim, a necessidade do estudo da interação das substâncias que compõem o óleo com as propriedades do meio como as do sangue usado em sua preparação, além da influência da temperatura.

Contudo, pudemos concluir que o óleo da *Copaifera reticulata* Ducke possui *in vitro* propriedades de ação fungistática e fungicida nos cultivos realizados em ágar sangue frente à *Candida albicans*. Isso vem mostrar também a necessidade de preservação das *Copaiferas*, árvores que tiveram sua eficiência descrita em nosso país como a carta, escrita por José de Anchieta em 1560 em que ele atende a um pedido do Prior da Companhia de Jesus para que “se escrevessem as coisas que, entre nós, fossem ou dignas de admiração ou desconhecidas deste mundo”. E sobre a copaíba diz:

“De entre as árvores, uma parece digna de menção (posto que haja outras que destillam um liquido, semelhante a resina, e que serve para remédio) a qual distilla um succo delicadíssimo, que alguns querem que seja bálsamo; o qual, a principio pelos furinhos, feitos pelo caruncho, ou também pelas incisões abertas com facas, ou machadinhos, corre como azeite, depois, coagulando-se, parece apresentar a apparencia de bálsamo: o cheiro que desprende não é muito forte, mas agradabilíssimo; e é excellente para curar feridas, porque nem mesmo restam vestígios de cicatrizes, como dizem que se provou pela experiência.”

8. FONTES CONSULTADAS

BRITO, N.M.B. et al. **Aspectos morfológicos e morfométricos do colo uterino de ratas ooforectomizadas após aplicação de óleo de copaíba.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, v.22, n.8, p.489-93, 2000. Apud in PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; MOREIRA, M.A.S. **Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais.** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.11, n.4, p.465-472, 2009.

BRITO, Helena Salles de; FONTENELLE, Raquel Oliveira dos Santos; BRILHANTE, Raimunda Sâmia Nogueira; CORDEIRO, Rossana de Aguiar; SIDRIM, José Júlio Costa; ROCHA, Marcos Fábio Gadelha. **Candidose na medicina veterinária: um enfoque micológico, clínico e terapêutico** Ciência Rural, Santa Maria, v.39, n.9, p.2655-2664, dez, 2009.

COLOMBO, Arnaldo Lopes; GUIMARÃES, Thaís. **Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 36(5):599-607, set-out, 2003.

DEUS, R. J. A.; CARVALHO, A. S. C.; BANNA, D. A. D. S.; ARRUDA, M. S. P.; ALVES, C. N.; SANTOS, A. S. **Efeito fungitóxico in vitro do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne).** Universidade Federal do Pará. Botucatu: Rev. Bras. Pl. Med. Volume 11, 2009.

INDEX KEWENSIS. **Supplement XX.** Oxford: Claredon Press, 346p. 1996. Apud in PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; MOREIRA, M.A.S. **Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais.** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.11, n.4, p.465-472, 2009.

LAMEIRA, Christian Neri. **ATIVIDADE DO ÓLEO-RESINA DE *Copaifera reticulata* Ducke NO CRESCIMENTO MICELIAL IN VITRO DE FITOPATÓGENOS.** Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de Mestre. Orientador: Prof. Dr. Benedito Gomes dos Santos Filho. Belém-PA, 2007.

LLOYD, J.U. ***Copaifera officinalis*.** Chicago: The Western Druggist, 13p., 1898. apud in PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; MOREIRA, M.A.S. **Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais.** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.11, n.4, p.465-472, 2009.

MENDONÇA, Davidy Eduardo; ONOFRE, Sideney Becker. **Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaiba – *Copaifera multijuga* Hayne (Leguminosae).** Revista Brasileira de Farmacognosia 19(2B): 577-581 Abr./Jun. 2009.

MENEZES, Tatianny Oliveira de Alencar; ALVES, Ana Cláudia Braga Amoras; VIEIRA, José Maria dos Santos; MENEZES, Sílvio Augusto Fernandes; ALVES, Bruno Pereira; MENDONÇA, Lúcia Carla de Vasconcelos. **Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*.** Revista de Odontologia da UNESP. 2009; 38(3): 184-91.

PIERI, F.A.; MUSSI, M.C.; MOREIRA, M.A.S. **Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais.** Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.11, n.4, p.465-472, 2009.

PONTES, A. B.; CORREIA, D. Z.; COUTINHO, M. S.; MOTHÉ, C. G. **Emulsão Dermatológica À Base de Copaíba** Universidade Federal do Rio de Janeiro - Escola de Química. Rio de Janeiro: Revista Analytica N°07, 2003.

SACHETTI, C. G.; FASCINELI, M. L.; SAMPAIO, J. A.; LAMEIRA, O. A.; CALDAS, E. D. **Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico da copaíba.** Belém: Revista Brasileira de Farmacognosia - 19(4): 937-941. 2009.

SANTOS, S. P.; SILVA, R. M.; PAIVA, I. A. E.; SANTOS, F. A.; RAO, V. S. N.; SILVEIRA, E. R.; **Resumos do XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Florianópolis, Brasil, 1996.

SILVA, Carlos Henrique Pessôa de Menezes; LINS, Alessandro Pereira; CRUZ, Caroline Sathler Oliveira. **Elaboração de meio para hemocultura com resina inativadora de antibióticos e comparação laboratorial do meio desenvolvido com o meio bact/alert aerobic fanpara a detecção de bacteriemia e fungemia em pacientes em uso de terapia antimicrobiana.** RBAC, vol. 38(2): 99-106, 2006.

TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flávio. **Microbiologia**: 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PATTUCCI, M. L.; PINTO, A. C. **Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução.** Instituto de Química – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro: Química Nova, 1997.

VEIGA JÚNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C. **O GÊNERO *Copaifera* L.** Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, CT, Cidade Universitária, Ilha do Fundão, 21945-970 Rio de Janeiro – RJ. Quim. Nova, Vol. 25, No. 2, 273-286, 2002.

VEIGA JUNIOR, V.F. et al. **Plantas medicinais: cura segura?** Química nova, v.28, n.3, p.519-28, 2005.

VEIGA JUNIOR, V. F.; ROSAS, E. C.; CARVALHO, M. V.; HENRIQUES, M.G. e PINTO, A. C. **Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne--a comparative study.** J. Ethnopharmacol. 2007 Jun 13;112(2):248-54. Epub Mar 7, 2007.