

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE LIPOSSOMAS PEGUILADOS CONTENDO ÓLEO-RESINA DE COPAÍBA

Douglas Souza de Sousa (PEI/UFBA, <https://orcid.org/0009-0006-7312-2174>, douglas.szdss@gmail.com), **Diego Roberto da Cunha Pascoal** (Natura & Co, dpaulit@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-7639-4067>), **Fabiana Olena Kotwiski** (PEI-UFBA, fabiana.olen@ufba.br, <https://orcid.org/0000-0002-2016-6716>), **Elaine Cabral Albuquerque** (PEI/PEGENAN - UFBA, elainecmca@ufba.br, <https://orcid.org/0000-0002-3472-9129>)

Douglas Souza de Sousa (douglas.szdss@gmail.com)

RESUMO

Este estudo teve como tema o desenvolvimento e a caracterização de lipossomas peguilados contendo óleo-resina de copaíba, abordando o problema da necessidade de sistemas de entrega estáveis para compostos bioativos naturais. O objetivo geral foi desenvolver e caracterizar físico-quimicamente essas nanopartículas lipídicas. A metodologia consistiu na preparação dos lipossomas pelo método clássico de hidratação do filme lipídico (Bangham), utilizando Phospholipon 90G, PEG-4L e óleo-resina de copaíba, seguida de caracterização por Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) para tamanho e potencial zeta, Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) para morfologia e Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) para análise térmica. Os resultados demonstraram que os lipossomas contendo óleo resina de copaíba exibiram estabilidade notável, mantendo diâmetro hidrodinâmico inferior a 200 nm e índice de polidispersão (PDI) menor que 0,3 por até 153 dias, enquanto os lipossomas vazios se desestabilizaram completamente em 21 dias. A MET confirmou a formação de lipossomas esféricos e os resultados de DSC não mostraram eventos de degradação da formulação até 80°C. Este estudo permitiu observar que os compostos presentes no óleo resina de copaíba, como os diterpenos, atuaram como agentes estabilizantes da bicamada lipídica e que a nanoencapsulação forma um sistema promissor para aplicações farmacêuticas, potencialmente viabilizando o uso do óleo-resina no tratamento de doenças como a linfadenite caseosa em animais e infecções fúngicas, ao proteger os bioativos, permitir liberação sustentada e facilitar a entrega intracelular.

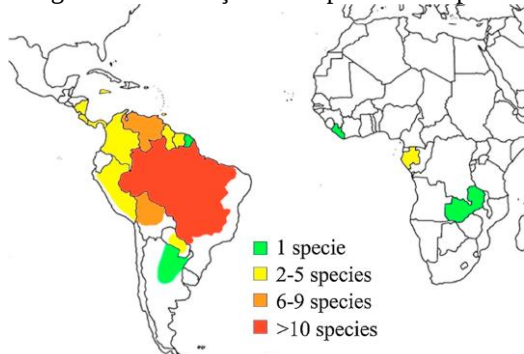
Palavras-chave: Nanomateriais. biotecnologia. vesículas. Produtos Naturais. Copaifera.

1 Introdução

O óleo-resina de copaíba é uma substância composta por diterpenos ácidos (fase sólida) e sesquiterpenos (fase volátil) que apresentam cor e viscosidade variáveis a depender da sua composição. Os sesquiterpenos são responsáveis pelo aroma e também pela atividade anti-inflamatória do óleo-resina (Barreto Junior et al., 2005). A sua baixa viscosidade e acidez são importantes para o processamento farmacêutico; em contraste, a elevada viscosidade e acidez são importantes para uso cosmético, (Pieri; Mussi; Moreira, 2009; Leandro et al., 2012; Lemos et al., 2015). Na fração volátil, sesquiterpenos como β -cariofileno, α -copaeno, α -humuleno e óxido de cariofileno são os compostos majoritários,

frequentemente utilizados como marcadores químicos (Pieri; Mussi; Moreira, 2009; Sousa *et al.*, 2011). As espécies mais abundantes são *C. officinalis* L., *C. guyanensis* Desf., *C. reticulata* Ducke, *C. multijuga* Hayne, *C. langsdorffii* Desf., *C. coriacea* Mart. e *C. cearensis* Huber ex Ducke (Imagem 1).

Imagem 1: Distribuição das espécies de copaíba



Fonte: Arruda *et al.*, 2019

O óleo-resina têm amplo uso na medicina tradicional: os indígenas paraguaios a aplicavam contra reumatismo e disenteria; na Amazônia brasileira, para feridas, doenças pulmonares e asma (Veiga Junior; Pinto, 2002). A oleó-resina de *Copaifera* spp. é bem conhecida na medicina popular como cicatrizante de feridas, anticancerígena, anti-inflamatória, antimicrobiana, antiviral, anestésica local, citotóxica, inseticida e bactericida. Apesar da composição qualitativa semelhante entre as espécies de *Copaifera*, há variações significativas nas concentrações dos compostos. Dentre os diterpenos com efeito antimicrobiano, destaca-se o ácido copálico que inibiu (CIM entre 5 e 0,5 µg/mL) o crescimento de vários microrganismos, como *K. rhizophila*, *S. pyogenes*, *S. pneumonie*, *B. subtilis*, *S. dysgalactiae*, *S. agalactiae*, *S. epidermidis* (Abrão *et al.*, 2015). O ácido caurenóico apresentou efeito semelhante em *S. pneumoniae* e *S. pyogenes* a 5 µg/mL (Abrão *et al.*, 2015). A óleo-resina de *C. reticulata* inibiu o crescimento de *P. gingivalis* a 6,25 µg/mL (Kala *et al.*, 2016). Um dos usos tradicionais mais estabelecidos relatados para a óleo-resina de *Copaifera* é como agente de cicatrização de feridas. Apesar disso, há poucos relatos científicos que corroboram a eficácia da *Copaifera* spp. em relação a essa atividade. Levando isso em consideração, Paiva e colaboradores (2002) avaliaram a óleo-resina de *C. langsdorffii* *in vivo*: aplicações tópicas diárias de 100 µL de soluções com 2% ou 4% da óleo-resina foram realizadas durante 21 dias. Foi descoberto que a 4%, a óleo-resina acelerou significativamente o processo de cicatrização: 84,05% de redução do tamanho original, em comparação com 51,29% do controle no 9º dia. A resistência à tração em incisões de cicatrização também mostrou diferença quando foram tratadas com 4% de óleo-resina no dia 5 (71,48 g/cm no tratamento com óleo-resina, em comparação com 35,95 g/cm no controle). Veiga e colaboradores (2007) avaliaram a atividade anti-inflamatória da óleo-resina de *C. cearensis*, *C. reticulata* e *C. multijuga* medindo a produção de NO em macrófagos murinos e *in vivo* usando o modelo de pleurisia induzida por zimosan em camundongos. Diclofenaco (100 mg/kg) foi usado como inibidor de referência (controle positivo). Foi descoberto que, entre as amostras avaliadas, a óleo-resina de *C. multijuga* inibiu significativamente a produção de NO *in vitro* de 30% a 50 µg/mL. *In vivo*, a inibição do acúmulo total de leucócitos foi de 45% e de neutrófilos 73% após a administração oral de óleo-resina a 100 mg/kg. Os estudos na literatura evidenciam a potencialidade do uso desse composto em aplicações farmacêuticas. No entanto, deve-se destacar que a lipofilicidade do óleo-resina limita suas aplicações em meio aquoso. Dessa forma, a encapsulação em sistemas

nanoparticulados, como lipossomas, pode contornar tal limitação, por melhorar sua biodisponibilidade.

Os sistemas lipossomais são reconhecidamente utilizados em formulações farmacêuticas para tratamento de câncer, doenças fúngicas e vacinas por serem sistemas que apresentam a característica única de interagir com a membrana celular. Dessa forma, neste trabalho, óleo-resina de copaíba foi encapsulado em lipossomas nanométricos funcionalizados com PEG-4L e caracterizados quanto à eficiência de incorporação e estabilidade da dispersão coloidal em meio aquoso.

2 Material e Métodos

2.1 Material

Os lipídios Phospholipon 90G (PC de soja) foram adquiridos da Lipoid, enquanto o PEG-4L foi adquirido da Lipo Chemicals. O óleo-resina (OC) de *Copaifera lutezelburgii* foi coletado na região de Barreiras/BA/Brasil (latitude – 10.16667, longitude – 44.86667 WGS84). Os solventes orgânicos utilizados foram de grau analítico.

2.2 Caracterização do óleo resina de copaíba

2.2.1 Perfil cromatográfico por Cromatografia gasosa (CG-EM)

A análise cromatográfica do óleo-resina de copaíba foi realizada usando cromatografia gasosa (GC-FID, Finnigan-Tremetrics, model 9001, USA) equipado com coluna capilar DB-5 (30 mm × 0.35 mm × 0.25 mm). A taxa do gas de arraste (hélio) foi de 1.7 ml/min. A corrida inicial começou a temperatura de aquecimento de 30 °C por 5 min, seguido de 30 to 300 °C a uma taxa de aquecimento de 5 °C/min e, depois, mantida por 5 min; A temperatura do injetor e detector foi de 240°C. O volume de amostra injetado foi de 5 µl com split de 1:20. β-caryophyllene foi quantificado por padrao externo. Todas as amostras foram injetadas duas vezes. Muitos compostos do oleo de copaiba foram identificados por CG-EM (7890 A, Agilent, USA) usando database do NIST and FFNSC 2 (Wiley).

2.2.2 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica analítica amplamente utilizada para estudar propriedades térmicas de materiais. As amostras foram postas em cadinhos de aluminio selados e analisadas em equipamento da Shimadzu DTA-50 nas seguintes condições: faixa de temperatura entre 25°C e 600°C e taxa de aquecimento constante de 10° C/min sob atmosfera de nitrogênio, por 60 minutos. As análises foram feitas em duplicata.

2.3 Preparação dos lipossomas pelo método da hidratação do filme seco de lipídios

Lipossomas peguizados vazios e contendo óleo-resina de copaíba foram preparados usando o método clássico de Bangham conforme descrito por Bangham, Standish e Watkins (1965). Brevemente, lipossomas peguizados vazios e contendo bioativos de copaíba foram preparados nas seguintes proporções mássicas (m/m): PC + PEG (70:30) e PC + PEG + óleo de copaíba (70:20:10). Inicialmente, os lipídios foram solubilizados em 10 mL de clorofórmio (CHCl₃) e evaporados em evaporador rotatório por aproximadamente 10 min. Posteriormente, o filme seco foi hidratado, por 5 minutos, em tampão fosfato 10 mM para a formação de lipossomas multilamelares. Os lipossomas foram homogeneizados, quanto ao tamanho, por meio de sonicação (sonicador Unique, modelo DES500) com potência ultrassônica de 500 watts (RMS) em frequência ultrassônica de 20 kHz em micro-ponteira de titânio de 4 mm de diâmetro, por 30 minutos, de modo intermitente, sendo 25 segundos ligados e 35 segundos desligados.

2.4 Caracterização físico-química dos lipossomas peguilados contendo óleo-resina de copaíba

2.4.1 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS)

O espalhamento dinâmico de luz (DLS) é uma técnica amplamente utilizada para caracterizar nanopartículas, especialmente para determinar o tamanho e distribuição de tamanhos das partículas. O DLS é valorizado por ser simples, reprodutível e eficiente. As medidas foram realizadas no Zetasizer nanoZS (Malvern Instruments). As amostras foram diluídas aproximadamente na proporção 1:50 (v/v) para realização da leitura.

2.4.2 Potencial Zeta

A dispersão de luz eletroforética (ELS) foi utilizada para medir a mobilidade eletroforética e o potencial zeta da dispersão lipossomal em meio aquoso. As medidas foram realizadas em Zetasizer nanoZS (Malvern Instruments).

2.4.3 Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

A microscopia eletrônica de transmissão permite a avaliação das características morfológicas dos lipossomas (forma e tamanho). As análises foram realizadas no Instituto de Física da UFBA em microscópio JEOL JEM 2800 (com aceleração de voltagem de 80 kV). Foram empregados grids de cobre recobertos com filmes de carbono. As amostras lipossomais, ~10 µL, foram depositadas sobre os grids e, após 1 minuto, foi retirado o excesso de líquidos com papel de filtro. Os grids foram submersos com ~10 µL de acetato de uranila e, após 30 s, removeu-se o excesso de agente corante com papel de filtro.

3 Resultados

3.1 Caracterização do óleo resina de Copaíba

A análise térmica do óleo-resina de copaíba mostrou dois eventos de degradação característicos. O primeiro evento a temperatura de 159 °C e o segundo a 301 °C.

O perfil cromatográfico do óleo-resina de copaíba está mostrado na tabela 1.

Tabela 1 - Perfil químico do óleo resina de copaíba por CG-EM

Tempo de retenção	Compostos	Area, %
21.7	α -Cubebeno	1,31
22.9	α-Copaeno	11,51 (4)
23.5	β -Cubebeno	1,82
24.7	β-Cariofileno	20,36 (1)
25.4	α-cis-Bergamoteno	7,98 (5)
25.8	Sesquisabineno	0,16
26.2	α -Humuleno	2,97
26.5	Alloaromadendreno	1,74
27.2	γ -Muuroleno	3,44
27.6	β -Selineno	4,44
27.9	α -Selineno	3,39
28.2	α -Muuroleno	1,60
28.5	β-Bisaboleno	13,85 (2)
28.7	γ -Cadineno	2,82
29.1	δ-Cadineno	12,46 (3)
29.5	Trans-Cadina-1,4-dieno	0,97
29.7	α -Cadineno	0,41
29.9	(E)-a-Bisaboleno	1,56
30.5	Germacreno B	0,28
30.9	Isodauceno	0,60
31.6	9-epi-(E)-Cariofileno	1,27
32.7	Artemisia trieno	0,14
33.0	Sibireno	1,32
33.8	Longicamfenilona	0,23
33.9	γ -Muuroleno	0,68
34.2	Cadina-1(6),4-diene	0,51
34.5	Germacrene B	0,74
44.3	Manool	0,06
45.1	trans-, p-Mentha-2,8-dien-1-ol	0,06
45.4	allo-Aromandendrene epoxide	0,04
46.4	cis-Mayol	0,02
47.8	14-hydroxy-(Z)-Cariofileno	0,05
48.2	Borneol	0,01
54.8	Myrtenyl isobutyrate	0,02
56.0	Longifolol	0,40
57.5	14-hydroxy-4,5-dihydro-Cariofileno	0,07
59.8	4-methyl-Cyclohex-1-ene	0,20
66.1	trans-Mayol	0,07

Identified substances: ~98.55; % non-identified substances: ~1.45 %

3.2 Caracterização físico-química dos lipossomas peguilados contendo óleo-resina de copaíba

3.2.1 Caracterização por DLS

Os dados de tamanho, distribuição de tamanhos e carga superficial das dispersões produzidas constam nas tabelas 2-4. As propriedades de tamanho e carga superficial foram monitoradas por até 6 meses.

Tabela 2: Média e desvio padrão do diâmetro hidrodinâmico médio (d.nm), índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta (mV) dos lipossomas a 25°C. As dispersões foram monitoradas ao longo do tempo. (n = 3).

Lipossomas-PEG	T0 Frescas			T1 (1/05) (Vazios 15 dias) (Com OC 62 dias)			T2 (Vazios 21 dias) (Com OC 62 dias)		
Tipo	PDI	d.nm	mV	PDI	d.nm	mV	PDI	d.nm	mV
Vazios	0,243 ± 0,007	93,93 ± 7,072	-6,003 ± 0,393	0,272 ± 0,033	116,46 ± 53,89	-6,003 ± 3,526	1,000 ± 0	3169 ± 891,6	-1,323 ± 0,032
com OC	0,166 ± 0,007	116,9 ± 5,444	-10,92 ± 1,267	0,068 ± 0,013	131,4 ± 1,135	-14,93 ± 0,251	0,085 ± 0,022	136,1 ± 1,410	-17,16 ± 1,331

Fonte: O autor

Os resultados apresentados na Tabela 1 evidenciam que a presença dos compostos presentes no óleo-resina de copaíba promoveu maior estabilidade física dos lipossomas peguilados. Os lipossomas vazios mostraram-se instáveis ao longo de 21 dias após sua produção.

Tabela 3: Média e desvio padrão do diâmetro hidrodinâmico médio (d.nm), índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta (mV) dos lipossomas peguilados com copaíba a 25°C. As dispersões foram monitoradas ao longo do tempo; as amostras vazias pararam de ser monitoradas após a desestabilização do PDI e do diâmetro hidrodinâmico médio. (N/A = Nenhuma Análise) (n = 3).

Lipossomas-PEG	T3 (com OC 89 dias)			T4 (com OC 110 dias)			T5 (com OC 116 dias)		
Tipo	PDI	d.nm	mV	PDI	d.nm	mV	PDI	d.nm	mV
Vazios	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
com OC	0,098 ± 0,013	129 ± 2,078	-13,3 ± 0,871	0,115 ± 0,008	135,46 ± 0,568	-14,8 ± 0,781	0,098 ± 0,007	137,63 ± 1,850	-16,1 ± 1,252

Fonte: O Autor

Os lipossomas peguilados com óleo-resina de copaíba mostraram-se estáveis (fisicamente, sem agregação significativa) por até 153 dias. Essa estabilidade é importante para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas, pois garante integridade e manutenção das características da dispersão lipossomal.

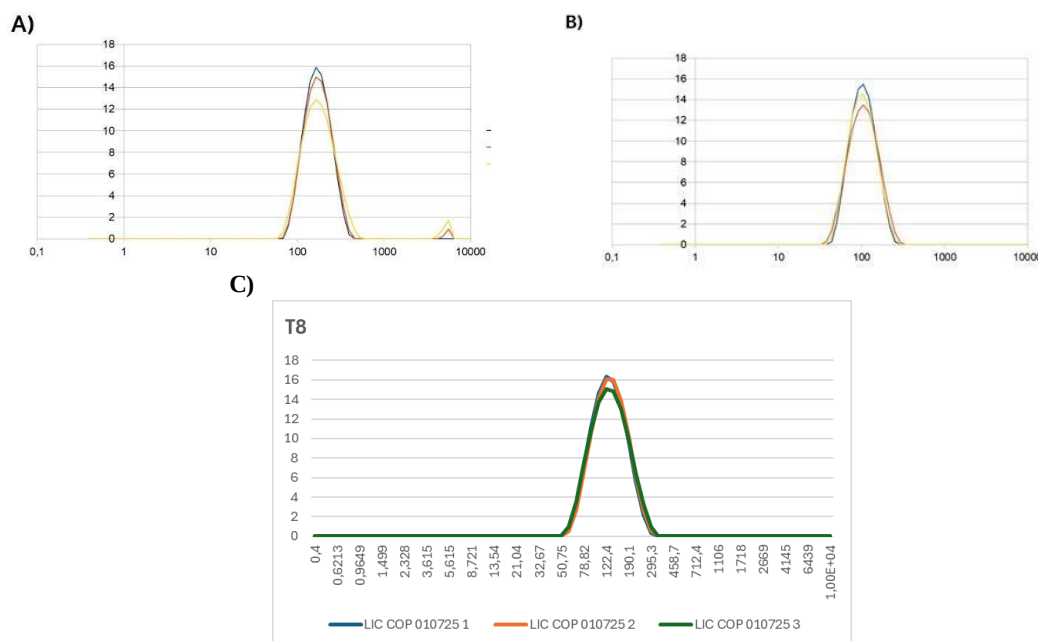
Tabela 4: Média e desvio padrão do diâmetro hidrodinâmico médio (d.nm), índice de polidispersão (PDI) e potencial zeta (mV) dos lipossomas com copaíba após 74 dias a 25°C. As dispersões foram monitoradas ao longo do tempo. (N/A = Nenhuma Análise) (n = 3).

Lipossomas-Peg	T6 (com OC 136 dias)			T7 (com OC 145 dias)			T8 (com OC 153 dias)		
1ª Produção	PDI	d.nm	mV	PDI	d.nm	mV	PDI	d.nm	mV
Vazios	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
com OC	0,116 ± 0,002	149,13 ± 1,594	-15,60 ± 0,173	0,106 ± 0,012	161,70 ± 1,992	-13,60 ± 0,200	0,142 ± 0,012	172,96 ± 5,632	-12,43 ± 0,832

Fonte: O Autor

Após 167 dias de produção, os lipossomas peguilados contendo óleo-resina de copaíba apresentaram diâmetro hidrodinâmico médio de $854,13 \pm 101,6$ nm, índice de polidispersão (PDI) maior que 0,5, indicando heterogeneidade da população.

Imagem 1: Distribuição de tamanhos de lipossomas peguilados vazios (A) e contendo óleo-resina de copaíba após 15 dias (B) e após 153 dias de produção (C).



Fonte: O autor

A produção de novas formulações lipossomais confirmou o tamanho nanométrico dos lipossomas peguilados contendo óleo-resina de copaíba (~100 nm) e a estabilidade física ao longo do tempo.

3.2.2 Morfologia por MET

As análises realizadas por MET mostraram a presença de lipossomas peguilados aproximadamente esféricos. As fotomicrografias mostram tamanho de lipossomas compatível com a análise de DLS.

Imagem 2: Morfologia, dispersão e tamanho de lipossomas peguilados com copaíba após 62 dias de produção. Campos diferentes da mesma amostra - diferentes magnitudes.

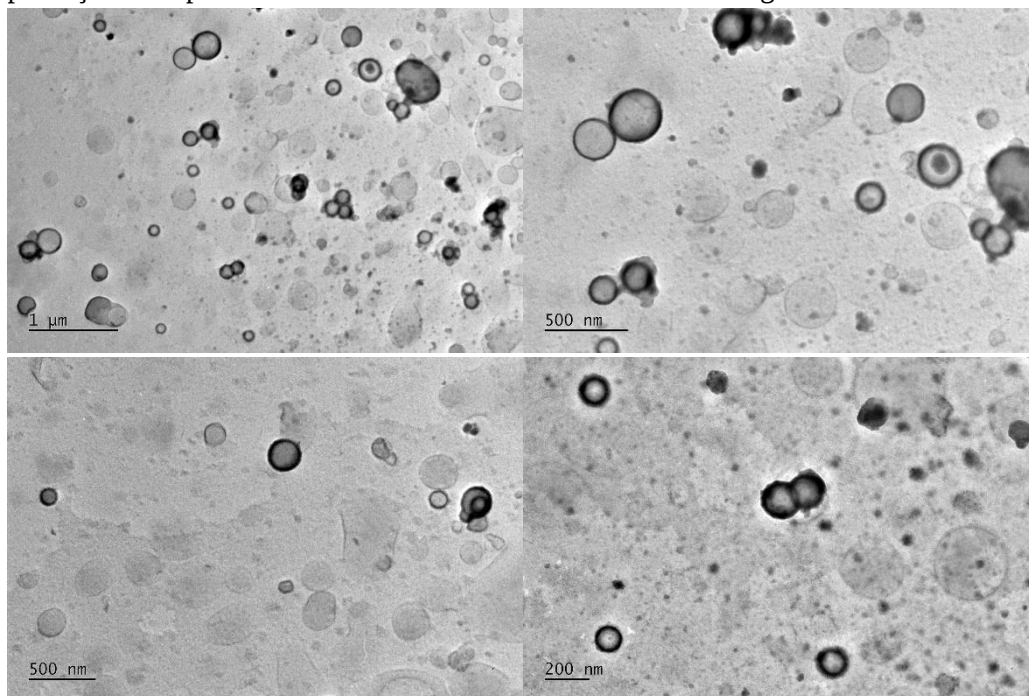
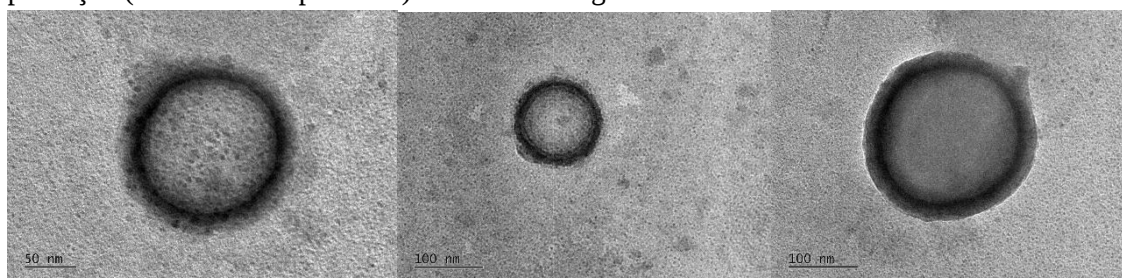


Imagem 3: Morfologia de lipossomas peguilados com óleo-resina de copaíba após 62 dias de produção (zoom de uma partícula). Diferentes magnitudes: barras de 50nm e 100nm.



4 Análise e Discussão

O perfil cromatográfico do óleo-resina de copaíba mostrou que 5 compostos majoritários correspondem a aproximadamente 66% da composição do óleo. Dentre eles, o alfa-copaeno e o beta-cariofileno têm reconhecidas propriedades biológicas documentadas na literatura, como atividade anti-inflamatória e antibacteriana (MORELLI et al., 2015; SANTOS et al., 2013). Dessa forma, o óleo torna-se interessante em aplicações voltadas para cicatrização de feridas ou lesões cutâneas.

O perfil térmico do óleo-resina de copaíba mostrou que sua degradação ocorre apenas a temperaturas superiores a 150 °C, sendo estável à temperatura fisiológica do corpo e à temperatura ambiente. Morelli et al. (2015) observaram que o óleo-resina da *Copaifera multijuga* apresenta dois picos de perda de massa com temperaturas máximas de 210 °C e 290 °C, onde essas perdas de massa podem estar associadas à evaporação ou à oxidação de alguns constituintes do óleo. Fayad (2010) encontrou três estágios de degradação para o óleo-resina: 164,3 °C, 237,8 °C e 267,6 °C. Os dados da literatura são similares aos encontrados com o óleo-resina usado neste trabalho, sendo a diferença nas temperaturas para

as referências citadas, provavelmente, devida à heterogeneidade da composição do óleo-resina de copaíba.

As dispersões lipossomais com óleo-resina de copaíba apresentam PDI inferior a 0,2, indicando a distribuição monomodal e diâmetro hidrodinâmico médio inferior a 200 nm até 153 dias após a produção, enquanto os vazios apresentam PDI inferior a 0,3 e diâmetro hidrodinâmico médio inferior a 200 nm até 15 dias após a produção. Com 21 dias, os lipossomas vazios apresentam PDI de 1, indicando população heterogênea (desestabilização), com diâmetro hidrodinâmico médio próximo de 3000 nm. Esse aumento do PDI e do diâmetro hidrodinâmico médio dos lipossomas vazios comparados aos com copaíba, utilizando a mesma metodologia, sugere uma interação entre compostos da copaíba e a bicamada lipídica, promovendo maior estabilidade dos lipossomas. Este resultado corrobora o estudo publicado por Blanco e colaboradores (2023) que demonstrou diferença estatística significativa (conforme teste de Mann-Whitney) entre os tamanhos de lipossomas contendo copaíba em comparação com os lipossomas vazios. No entanto, os lipossomas vazios produzidos por Blanco e colaboradores mostraram-se estáveis por 90 dias. É importante ressaltar que as estruturas químicas dos terpenos são volumosas e podem ajustar a bicamada lipídica, reduzindo a mobilidade das cadeias de hidrocarboneto. A natureza cíclica e volumosa do ácido copálico, frequentemente considerado o diterpeno majoritário e um biomarcador óleo-resina, do ácido caurenóico e do ácido hardwíckiico favorece a acomodação entre as cadeias de hidrocarbonetos da bicamada, o que restringe o movimento lateral, a flexão e a rotação das caudas de fosfolípidios. Ao limitar a liberdade de movimento das caudas, a bicamada se torna menos fluida, especialmente em temperaturas fisiológicas, alinhando-se de forma muito próxima, promovendo um empacotamento mais ordenado das cadeias vizinhas.

A análise da morfologia dos lipossomas revelou a presença de estruturas aproximadamente esféricas, como pode ser visto nas imagens 2 e 3. As imagens estão alinhadas com as análises de DLS.

5 Conclusões

Os resultados obtidos com o trabalho permitem concluir que foi possível obter lipossomas peguados contendo óleo-resina de copaíba estáveis por até quase 6 meses. O óleo-resina de copaíba mostrou-se estável a temperaturas até 150 °C e apresentou o beta-cariofileno como componente majoritário em sua composição. Dessa forma, a dispersão lipossomal produzida neste trabalho apresenta potencial para aplicações farmacêuticas.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Os autores ainda gostariam de agradecer à UFBA, em especial ao LPB, ao CiENam e ao ICS e aos seus colaboradores pela disponibilidade de equipamentos e orientação.

Referências

- ABRÃO, F. et al. Copaifera langsdorffii oleoresin and its isolated compounds: antibacterial effect and antiproliferative activity in cancer cell lines. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, n. 1, dez. 2015.
- ARRUDA, C. et al. Occurrence, chemical composition, biological activities and analytical methods on Copaifera genus—A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 1–20, jan. 2019.

- BANGHAM, A. D.; STANDISH, M. M.; WATKINS, J. C. Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids. *Journal of molecular biology*, v. 13, n. 1, p. 238–52, 1965.
- CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry**, v. 55, n. 7, p. 773–778, dez. 2000.
- KALA, D. et al. *Copaifera reticulata* oleoresin: Chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens. **Anaerobe** v. 40, p. 18–27, 1 ago. 2016.
- LEMOS, M. et al. *Copaifera langsdorffii*: evaluation of potential gastroprotective of extract and isolated compounds obtained from leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 25, p. 238–245, 2015.
- LEANDRO, L. M. et al. Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from *Copaiba* (*Copaifera* spp.) Oleoresins. **Molecules**, v. 17, n. 4, p. 3866–3889, 30 mar. 2012.
- MORELLI CL, MAHROUS M, BELGACEM MN, BRANCIFORTI MC, BRETAS RES, Bras J. Natural copaiba oil as antibacterial agent for bio-based active packaging. **Ind Crops Prod.** 2015;70:134–41.
- PAIVA, F. et al. Investigation on the wound healing activity of oleo-resin from *Copaifera langsdorffii* in rats. v. 16, n. 8, p. 737–739, 1 jan. 2002.
- PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 465–472, 2009.
- RIBEIRO, V. P. et al. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 253–268, 1 jan. 2018.
- A.O. SANTOS, E. IZUMI, T. U. NAKAMURA, B.P. DIAS-FILHO, V.F. VEIGA-JUNIOR, A.C. PINTO, C.V. NAKAMURA. Antileishmanial activity of diterpene acids in copaíba oil. **Memory Institute Oswaldo Cruz** 108 (2013) 59–64.
- SOUSA, J. P. B. et al. Validation of a gas chromatographic method to quantify sesquiterpenes in copaiba oils. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, n. 4, p. 653–659, 25 mar. 2011.
- VEIGA JR., V. F.; PATITUCCI, M. L.; PINTO, A. C. Controle de autenticidade de óleos de copaíba comerciais por cromatografia gasosa de alta resolução. **Química Nova**, v. 20, n. 6, dez. 1997.
- VEIGA, V. F. et al. Phytochemical and antioedematogenic studies of commercial copaiba oils available in Brazil. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 6, p. 476–480, 2001.
- VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *copaifera* L. **Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 273–286, maio 2002.
- VEIGA, V. F. et al. 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. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, p. 248–254, jun. 2007.