

AValiação DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI) DA OLEORRESINA DE COPAÍBA

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND DETERMINATION OF MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION (MIC) OF COPAIBA OLEORESIN

Josiane Elizabeth **Almeida-Silva**^{1*}, Taiara de Andrade **Picanço**², Iasmin Lais Damasceno **Paranatinga**², José Jeosafá Vieira de **Sousa Júnior**², Sílvia Katrine da Silva **Escher**², Elaine Cristina Pacheco de **Oliveira**²

¹ Universidade Federal do Oeste do Pará, Programa de Pós-graduação em Biociências.

² Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Biodiversidade e Florestas.

* Rua Vera Paz, S/N - Salé, Santarém/PA, Brasil. CEP 68040-470. E-mail: josialmeida08@gmail.com

Submetido em: 16/11/2019; Aceito em: 02/06/2020.

RESUMO

A copaíba pertence ao gênero *Copaifera* que produz um exsudado extraído do tronco da árvore, utilizado na medicina popular para fins terapêuticos. Com o objetivo de avaliar a composição química e a atividade antimicrobiana *in vitro* da oleorresina de *Copaifera reticulata* Ducke, coletadas em diferentes períodos sazonais, na Floresta Nacional do Tapajós, frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, e à levedura *Candida krusei*, foi realizado ensaios de atividade antimicrobiana por disco difusão e microdiluição em placas, e avaliada a composição química da oleorresina por Cromatografia Gasosa-Espectroscopia de Massa (CG-EM). A atividade antimicrobiana constatou halos de inibição indicando que houve ação da óleorresina frente às bactérias *S. aureus* (15,5 e 16,7 mm) e *S. epidermidis* (17,5 e 17,3 mm), dos períodos chuvoso e seco, respectivamente. A determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) demonstrou que a oleorresina coletada no período seco apresentou uma CMI de 1,63 mg/ml para ambas as cepas. As amostras apresentaram atividade bactericida e bacteriostática para *S. aureus* e *S. epidermidis*, respectivamente. A análise química obteve como componente majoritário β - cariofileno, sendo 39.91% para período chuvoso e 41.67% para período seco. Embora haja diferença nos resultados quando comparados os períodos sazonais, a oleorresina possui uma comprovada ação antimicrobiana e um potencial como matéria-prima para produtos com essa finalidade.

Palavras-chave: Composição química. Concentração mínima inibitória. *Copaifera*. FLONA do Tapajós. Oleorresina.



ABSTRACT

Copaiba belongs to the *Copaifera* genus, which produces an exudate extracted from the tree trunk, used in popular medicine for therapeutic purposes, with the objective of evaluating chemical composition and the antimicrobial activity in vitro of the oleoresin from the *Copaifera reticulata* Ducke, collected in different seasonal periods, in the Tapajós National Forest, against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, and the yeast *Candida krusei*, antimicrobial activity tests were performed by disk diffusion and microdilution in plates, and evaluated the chemical composition of the oleoresin by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS). The antimicrobial activity found halos of inhibition indicating that there was action of oleoresin against bacteria *S. aureus* (15.5 and 16.7 mm) and *S. epidermidis* (17.5 and 17.3 mm), from the rainy and dry periods, respectively. The determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) demonstrated that the oleoresin collected in the dry period showed an MIC of 1.63 mg / ml for both strains. The samples showed bactericidal activity and bacteriostatic for *S. aureus* and *S. epidermidis*, respectively. The chemical analysis obtained as a major component β -karyophyllene, with 39.91% for rainy season and 41.67% for dry season. Although there is a difference in results when comparing seasonal periods, the oleoresin has proven antimicrobial action and potential as a raw material for products with that purpose.

Keywords: Chemical composition. *Copaifera*. Minimum Inhibitory Concentration. Oleoresin. Tapajós' FLONA.

INTRODUÇÃO

O gênero *Copaifera* pertence à família Fabaceae, e possui aproximadamente 72 espécies descritas, sendo que 16 dessas são encontradas exclusivamente no Brasil. Popularmente conhecida como copaibeira ou pau d'óleo, é uma árvore nativa de regiões tropicais e no Brasil é adaptada à diversos climas, onde se desenvolve principalmente no Norte e Nordeste (HECK *et al.*, 2012). Esta planta pode viver em média 400 anos, atingir uma altura entre 25 a 40 metros, e diâmetro entre 0,4 e 4 metros (MARTINELLI; MORAES, 2014). Possui a casca aromática, folhagem densa, flores pequenas e frutos secos, do tipo vagem (PIERI, 2009).

A oleorresina é obtida da árvore através de um furo realizado no tronco, e se apresenta como óleo transparente, de coloração variando entre amarelo claro ao castanho dourado, de viscosidade variável, odor forte e sabor amargo (LOURENÇO, 2009), composta por uma parte resinosa constituída por diterpenos (cerca de 55 a 60%), e uma fração volátil formada principalmente por sesquiterpenos (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002). Contudo, estudos apontam que a composição química da oleorresina pode alterar em função das condições edafoclimáticas, dentre elas, a sazonalidade (COSTA, 2017).

No Brasil, a oleorresina de copaíba é amplamente utilizada na medicina popular, sendo administrada por via oral e/ou por aplicação tópica da oleorresina *in natura* ou em formulações (LEANDRO *et al.*, 2012). Sendo

utilizada no tratamento de infecções das vias urinárias, atuando como anti-inflamatória, antisséptica, também no tratamento de cistite, incontinência urinária e sífilis; para úlceras e feridas no útero; para as infecções da derme e mucosa, em dermatites, eczemas, psoríases e ferimentos; para as vias respiratórias, é usada como antiasmática, expectorante, no tratamento de bronquite, faringite, hemoptise, pneumonia e sinusite; pode ser aplicada como analgésico, antidiarréico, cicatrizante, afrodisíaco, antioxidante, antitétânico, anti-herpético, bactericida, anticancerígeno, antitumoral, no tratamento de leishmaniose, reumatismo, hemorragias, paralisia, dores de cabeça e picadas de cobra (PEDREIRA, 2007; PIERI *et al.*, 2009; CARVALHO; MIKLE, 2014), em que essas atividades estão associadas a ação dos compostos químicos encontrados nesta oleorresina.

Dentre as espécies de *Copaifera* descritas, a *Copaifera reticulata* Ducke é apontada por Martins-da-Silva *et al.* (2008) como uma das espécies predominantes na Amazônia brasileira, amplamente distribuída no Pará, também é encontrada a sudoeste do Amapá, sudeste de Roraima e norte do Mato Grosso.

Nesse contexto, este trabalho tem por objetivo analisar a composição química e a atividade antimicrobiana *in vitro*, em função das alterações sazonais da oleorresina de *Copaifera reticulata* Ducke.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

A coleta da oleorresina de *Copaifera reticulata* Ducke foi realizada em abril (período chuvoso) e setembro (período seco) de 2016, na Floresta Nacional do Tapajós (FLONA do Tapajós), localizada no município de Belterra-PA, no km 117 da rodovia BR-163, (S 03° 21' 09,9" e W 55° 01' 26,5"), sob a autorização do SISBIO: 56937, de 06 de dezembro de 2015.

Identificação botânica

A identificação botânica foi realizada pela Embrapa Amazônia Oriental, onde a exsicata foi depositada no herbário Instituto Agrônomo do Norte (IAN), sob o registro NID: 58/2016.

Coleta da oleorresina de copaíba e separação das frações

A árvore foi perfurada em duas posições em direção ao centro do tronco, aproximadamente 1 m a 1,50 m em relação ao solo, com auxílio de um trado tradicional de 2 cm de diâmetro e 45 cm de comprimento. Foi utilizado um cano de PVC medindo $\frac{3}{4}$ de diâmetro e 10 cm de comprimento, em cada um dos furos feitos no tronco da árvore para evitar possíveis resíduos de madeira e auxiliar nas coletas posteriores. Após a coleta os canos foram vedados com uma tampa de PVC visando proteger a árvore contra infestações causadas por fitopatógenos e insetos. A oleorresina foi coletada com auxílio de calha metálica e armazenada em frascos de vidro âmbar e identificados (OLIVEIRA, 2006).

A separação das frações resinosa e volátil foi feita através do método de hidrodestilação simples, em um período de 6h de processo.

Análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM)

A análise das amostras da fração volátil da oleorresina foi realizada em Cromatógrafo Gasoso Acoplado a Espectrômetro de Massas (CG/EM), em um sistema Agilent Technologies AutoSystem XL GC-MS operando no modo EI a 70 eV, equipado com um injetor split/ splitless (250 °C). A temperatura da linha de transferência era de 280 °C. Utilizou-se o gás hélio como transportador (1,5 mL/min) e as colunas capilares utilizadas foram HP 5MS (30m x 0,25 mm, espessura de película 0,25 mm) e HP Innowax (30m x 0,32mm i.d., espessura de película 0,50 mm). O volume injetado foi de 1 µL da oleorresina.

A identificação dos constituintes da fração volátil da oleorresina de *Copaifera reticulata* Ducke foi realizada com base no índice de retenção (IR), determinado com referência das séries homólogas de *n*-alcanos, C₇-C₃₀, em condições experimentais idênticas, por comparação dos Espectros de Massa (EM) com a literatura (ADAMS, 1995) e pela correspondência dos espectros de massas com a biblioteca NIST/EPA/NHI. As quantidades relativas dos componentes individuais foram calculadas com base na área do pico CG.

Avaliação da atividade antimicrobiana da oleorresina de *Copaifera reticulata* Ducke

A atividade antimicrobiana da oleorresina de *C. reticulata* Ducke foi determinada pelo método disco de difusão (BAUER *et al.*, 1966), em placas de petri contendo Ágar Mueller Hinton (MH) para bactérias, e Ágar Sabouraud Dextrose para leveduras. Foram dispostos equidistantes discos de papel filtro de 0,5 cm de diâmetro embebidos com 10 µL da oleorresina de copaíba, nos meios previamente inoculados com 100 µL da suspensão microbiana padronizada na escala 0,5 Mcfarland correspondendo a 10⁸ UFC/mL (bactérias) e 10⁴ esporos/mL (fungos).

Os microrganismos testes utilizados foram: bactérias Gram-positivas *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 23235); bactérias Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 19429) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) e a levedura *Candida krusei* (ATCC 40147). O teste foi realizado em triplicata e as placas foram mantidas a 37 °C por 24h (bactérias) e 48h (leveduras). Como controle positivo utilizou-se o antibiótico cefuroxina 30 µg (bactérias) e nistatina a 100 µg (levedura).

A Concentração Mínima Inibitória (CMI) foi determinada apenas para discos contendo os microrganismos sensíveis, através do método de microdiluição em placa de 96 poços, conforme CLSI (2010). Previamente, foi preparado uma solução a 1.000 mg a partir da oleorresina, solubilizada no meio de cultura caldo Muller Hinton (MH). Nos poços da linha A à G foram dispensados 100 µL do respectivo meio de cultura líquido MH e em seguida foi dispensada uma alíquota de 100 µL das soluções mães no poço da linha A1 até A12, iniciando a microdiluição em série até os poços da linha G das colunas de 1-12. Utilizando as concentrações decrescentes 104,7; 52,35; 26,17; 13,09; 6,54; 3,27; 1,63 mg/mL. A linha H foi destinada aos controles em duplicata, controle de esterilidade (CE), Controle de viabilidade no inóculo (C-) e Controle do antibiótico (C+). Após o período de incubação as placas foram mantidas a

37 °C por 24h, sendo posteriormente reveladas com 50 µL da solução de Resazurina a 0,01%.

A mudança de coloração dos poços inicialmente azul, contendo as diferentes concentrações da oleorresina, para vermelho, indicará a negatividade do teste, e a permanência da cor azul indicará a positividade. Nos poços de controle, a permanência da cor azul indicará ação antimicrobiana e a mudança de coloração para vermelho indicará a viabilidade do inóculo. A Concentração Mínima Bactericida (CMB) foi determinada pela subcultura dos poços correspondendo a CMI revelada com a Resazurina, realizadas em meio de cultura Ágar Muller Hinton, a 37 °C por 24h.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média aritmética \pm variância. Para comparação das médias foi utilizado Análise de Variância One-Way (ANOVA), com posterior realização do teste de Tukey para múltiplas comparações. O nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição química da fração volátil da oleorresina de *C. reticulata* Ducke

Na Tabela 1 são apresentados os vinte e cinco componentes químicos identificados com base nos seus espectros de massas, comparados com os da literatura e com a biblioteca eletrônica, e em seus índices de retenção, obtidos por comparação de tempos de retenção.

De acordo com os dados obtidos, os compostos majoritários encontrados foram β -cariofileno (39,91% no período chuvoso e 41,67% no período seco), β -bisaboleno (7,38% no período chuvoso e 18,62% no período seco), α -humuleno (3,15% no período chuvoso e 5,38% no período seco), α -Bergamoteno (11,32% no período chuvoso e 5,24% no período seco) e β -selineno (1,72% no período chuvoso e 3,27% no período seco).

A variabilidade tanto na composição química, quanto na produção da oleorresina estão relacionadas a fatores como genética, nutrição, luminosidade, sazonalidade, fertilidade do solo, dendrometria, mas principalmente a fatores bióticos, pois sua produção é resultado da desintoxicação do organismo vegetal, servindo como defesa contra a ação de fungos, insetos, bactérias e outros agentes lesivos (BARBOSA, 2012; GARCIA; YAMAGUCHI, 2012; LUCCA, 2013; COSTA, 2017).

No trabalho realizado por Ziech *et al.* (2013), foi identificado o β -cariofileno, α -bergamoteno, β -selineno, α -humuleno, α -selineno e β -bisaboleno como os componentes majoritários na oleorresina de *C. reticulata* Ducke coletado em maio de 2011 na FLONA do Tapajós, período chuvoso. Zoghbi *et al.* (2009), em estudo acerca da variabilidade da composição química de *C. reticulata* Ducke em diferentes municípios, coletadas no período seco, observaram que a oleorresina coletada em Almeirim/ Pará possui como componentes majoritários o β -cariofileno (13%), α -bergamoteno (29,2%) e β -bisaboleno (28,5%), quanto a oleorresina coletada em Belterra/ Pará, apresentou como constituintes majoritários o β -cariofileno (11,3%), α -bergamoteno (25,9%) e β -bisaboleno (36,9%), e a oleorresina coletada em

Curionópolis/ Pará apresentou o β -cariofileno (19%), α -bergamoteno (8,1%), α -selineno (8,2%), α -selineno (5,4%), β -bisaboleno (18,2%) e óxido de cariofileno (15,2%), demonstrando que a composição da oleorresina de *C. reticulata* Ducke varia entre os indivíduos da mesma espécie, dependendo de seu potencial genético e fatores ambientais aos quais os indivíduos estão sujeitos.

Tabela 1 - Composição química da fração volátil da oleorresina de *C. reticulata* Ducke da FLONA do Tapajós no período chuvoso e seco.

Compostos	IR ^C	IR ^S	Período	Período	Fórmula Molecular	
			Chuvoso	Seco		
			Teor (%)	Teor (%)		
α -Elemeno	1339	1344	0.17	0.46	C ₁₅ H ₂₄	
α -Cubebeno	1353	1351	1.04	0.73	C ₁₅ H ₂₄	
α -Copaeno	1376	1376	2.63	4.05	C ₁₅ H ₂₄	
β-Cariofileno	1405	1404	39.91	41.67	C₁₅H₂₄	
α -Cedreno	1411	1409	0.45	1.39	C ₁₅ H ₂₄	
α-Bergamoteno	1436	1436	11.32	5.24	C₁₅H₂₄	
α -Aromadendreno	1445	1439	-	0.26	C ₁₅ H ₂₄	
α-Humuleno	1455	1454	3.15	5.38	C₁₅H₂₄	
Germacreno-D	1480	1480	5.84	8.15	C ₁₅ H ₂₄	
α -Curcumeno	1484	1483	0.93	0.91	C ₁₅ H ₂₄	
β-Selineno	1485	1485	1.72	3.27	C₁₅H₂₄	
Bicyclogermacreno	1501	1502	0.22	1.05	-	
β-Bisaboleno	1510	1509	7.38	18.62	C₁₅H₂₄	
β - Sesquifelandreno	1524	1524	0.31	0.51	C ₁₅ H ₂₄	
δ -Cadineno	1510	1513	2.54	0.87	C ₁₅ H ₂₄	
α -Cadideno	1538	1538	3.19	0.83	C ₁₅ H ₂₄	
Germacreno-B	1561	1556	4.28	1.57	C ₁₅ H ₂₄	
Spathulenol	1577	1576	0.45	-	C ₁₅ H ₂₄ O	
Cariofileno óxido	1580	1581	1.87	2.45	C ₁₅ H ₂₄ O	
Cedrol	1593	1596	2.43	1.07	C ₁₅ H ₂₆ O	
Eudesmol	1637	1635	-	0.19	C ₁₅ H ₂₆ O	
α -Muurolol	1641	1644	0.52	0.12	C ₁₅ H ₂₆ O	
α -Cadinol	1665	1653	1.61	0.93	C ₁₅ H ₂₆ O	
Cadaleno	1672	1674	-	0.26	C ₁₅ H ₂₈	
β -Vertivono	1811	1809	0.39	-	C ₁₅ H ₂₂ O	
Total identificado (%)			92.35	99.98		

Notas: *IR^C - Índice de Retenção do período Chuvoso; IR^S - Índice de Retenção do período Seco.

Fonte: os autores

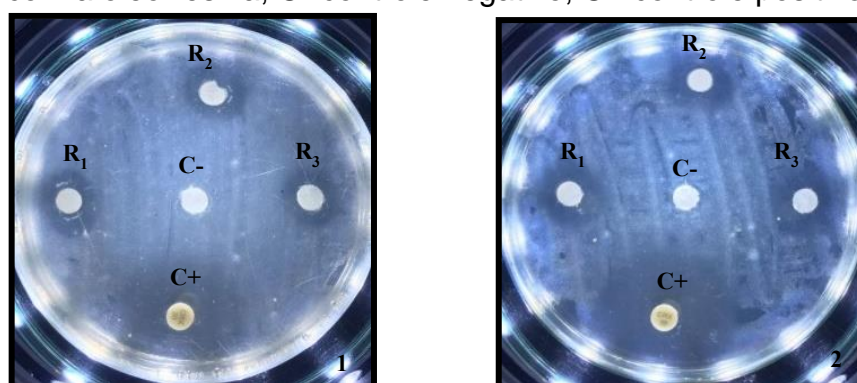
Os estudos citados, corroboram a presença dos constituintes majoritários e a variabilidade quanto aos respectivos teores identificados neste trabalho, em que, em ambos períodos sazonais, os compostos majoritários

foram β -cariofileno (39,91%; 41,67%), α -bergamoteno (11,32%; 5,24%), α -humuleno (3,15%; 5,38%), germacreno-D (5,84%; 8,15%), β -selineno (1,72%; 3,27%), β -bisaboleno (7,38%; 18,62%).

Atividade antimicrobiana da oleorresina de *C. reticulata* Ducke.

A oleorresina de *Copaifera reticulata* Ducke coletada nos períodos chuvoso e seco foi ativa apenas contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* (Figura 1).

Figura 1 – Ensaio de disco difusão em MH, da amostra da oleorresina de *C. reticulata* Ducke, coletadas no período seco, frente a *S. aureus* (1) e *S. epidermidis* (2). As representações: R₁, R₂ e R₃ correspondem as repetições do ensaio com a oleorresina, C- controle negativo, C+ controle positivo.



Fonte: os autores

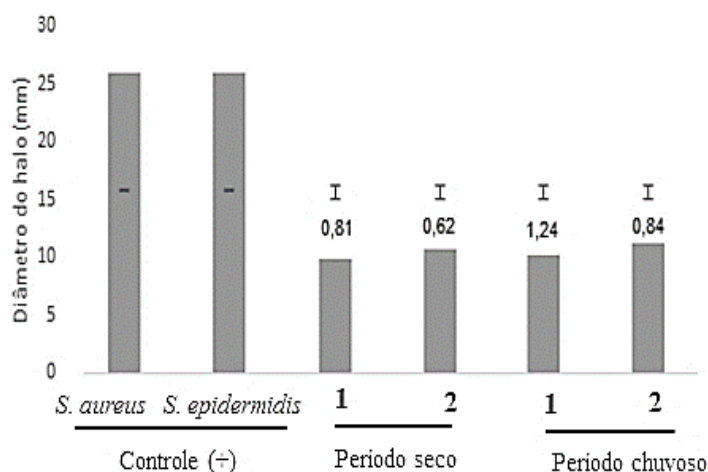
A oleorresina de *C. reticulata* Ducke do período seco foi mais ativa, com halo de inibição de 16,7 mm para *S. aureus* e 17,5 mm para *S. epidermidis*, em relação à oleorresina do período chuvoso, o halo de inibição foi de 15,5 mm para *S. aureus* e 17,3 mm para *S. epidermidis* (Figura 2). Huang *et al.* (2012), descrevem o potencial do β -cariofileno na inibição do crescimento bacteriano. Pichette *et al.* (2006) relatam que embora não existam registros sobre a atividade do α -bergamoteno na sua forma isolada, a literatura apresenta evidências de que este composto também contribui para a atividade antibacteriana detectada. Existem também outros compostos da oleorresina de copaíba presentes em menor quantidade, que podem desempenhar função na atividade antibacteriana como é o caso do α -humuleno (PICHETTE *et al.*, 2006).

Segundo Lucca (2013), os compostos β -Cariofileno e o β -Bisaboleno apresentam importância por suas propriedades farmacológicas, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, antiedêmica e analgésica. Outros constituintes como α -humuleno e β -selineno apresentam aromas marcantes, sendo utilizados principalmente pela indústria de perfumes (LIMA *et al.*, 2020).

A Concentração Mínima Inibitória (CMI) e a Concentração Mínima Bactericida (CMB) da oleorresina no período seco para *S. aureus* e *S. epidermidis* foi de 1,63 mg/mL, e para as amostras do período chuvoso foi de 6,54 mg/mL para *S. aureus* e de 1,63 mg/mL para *S. epidermidis* (Figura 3). Considerando os critérios sugeridos por Holetz *et al.* (2002), a atividade

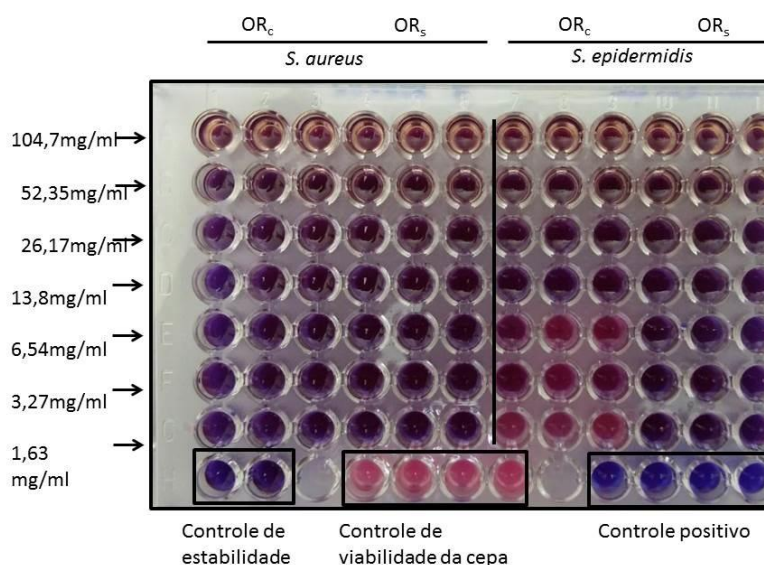
antimicrobiana é considerada boa quando a amostra apresenta CMI ≤ 100 $\mu\text{g/mL}$, moderada $100 < \text{CMI} \leq 500$ $\mu\text{g/mL}$, fraca $500 < \text{CMI} \leq 1000$ $\mu\text{g/mL}$ e inativa $\text{CMI} > 1000$ $\mu\text{g/mL}$. A amostra do período seco apresentou moderada atividade antibacteriana, enquanto a amostra coletada em período chuvoso apresentou fraca atividade frente às cepas avaliadas.

Figura 2 – Análise das médias da atividade antimicrobiana da oleorresina de *C. reticulata* Ducke dos períodos seco e chuvoso, frente às bactérias *S. aureus* e *S. epidermidis*.



Fonte: os autores

Figura 3 – CMI por microdiluição em placas da oleorresina de *C. reticulata* Ducke frente as cepas *S. aureus* e *S. epidermidis*. OR_c (oleorresina do período chuvoso) OR_s (oleorresina do período seco).



Fonte: os autores

O estudo realizado por Ziech *et al.* (2013) sobre a atividade antimicrobiana da oleorresina de copaíba frente a *Staphylococcus* coagulase - positiva multirresistentes, evidenciou através da CMI e CMB, a ação antimicrobiana, comprovando a eficácia da oleorresina em concentrações inferiores a 2,62 mg/mL.

Outro estudo que corrobora com os resultados encontrados neste trabalho é o apresentado por Santos *et al.* (2008) que confirma a atividade bactericida da oleorresina de *C. reticulata* Ducke frente a cepas de *S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. aureus* metilicina resistente (MRSA), no qual foi verificado a resistência de Gram-negativas *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883) (ATCC 25933), *E. coli* (ATCC 25922), *Shigella flexneri* (ATCC 12022) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), utilizando a técnica de microdiluição em caldo, e apontam uma CMI de 62,5 µg/mL. No estudo de Pacheco *et al.* (2006) utilizando essas mesmas condições, foram testadas onze amostras de oleorresina de copaíba, sendo cinco *Copaifera multijuga* Hayne e seis *Copaifera* sp., e não observaram inibição de *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Nascimento *et al.* (2007) observaram em seu trabalho a atividade antimicrobiana do β -bisaboleno frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e que a sinergia com o β -lactâmicos pode ser eficaz frente a cepas β -lactamase positivas. No entanto, é importante ressaltar que os distintos resultados entre os trabalhos podem estar relacionados às diferenças nas concentrações dos metabólitos na composição química das oleorresinas dentro da própria espécie.

CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos, pode-se observar que foram encontradas variações no conteúdo dos componentes majoritários das oleorresinas obtidos em períodos sazonais diferentes, principalmente para o β -cariofileno, que apresentou o maior percentual. A oleorresina de *C. reticulata* Ducke de ambos períodos sazonais foi ativa para as espécies *S. aureus* e *S. epidermidis*, porém, a oleorresina referente ao período seco demonstrou maior atividade, sugerindo que a sazonalidade pode ser um fator determinante diante da atividade antimicrobiana da espécie de copaíba estudada.

REFERÊNCIAS

ADAMS, P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry**. 4 Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007, 804 p.

BARBOSA, P. C. S. *et al.* Influence of abiotic factors on the chemical composition of copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne): soil composition, seasonality and diameter at breast height. **Revista Sociedade Brasileira de Química**, v. 23, n. 10, p. 1823 – 1833, 2012.

BAUER, A. W. *et al.* Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.

CARVALHO, L. O.; MIKLE, L. T. Importância terapêutica do óleo-resina de copaíba: enfoque para ação antiinflamatória e cicatrizante. **Revista Eletrônica Farmacêutica**, v. 11, n. 2, p. 25–36, 2014.

COSTA, B. S. S. **Variabilidade espacial de características dendrométricas da copaíba em função da aptidão agrícola em solos do Tocantins**. 2017. 124 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais e Ambientais) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2017.

HECK, M. C.; VIANA, L. A.; VICENTINI, V. E. P. Importância do óleo de *Copaifera* sp. (copaíba). **Revista Saúde e Biologia**, v. 7, n. 1, p. 82-90, 2012.

HOLETZ, F. B. *et al.* Screening of some plants used in the brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HUANG, M. M. *et al.* The major volatile organic compound emitted from *Arabidopsis thaliana* flowers, the sesquiterpene (E)- β -caryophyllene, is a defense against a bacterial pathogen. **Journal New Phytologist**, v. 193, n. 4, p. 997-1008, 2011.

GARCIA, R. F.; YAMAGUCHI, M. H. Óleo de copaíba e suas propriedades medicinais: revisão bibliográfica. **Revista Saúde e Pesquisa**, v. 5, n. 1, p. 137-146, 2012.

LEANDRO, L. M. *et al.* Chemistry and Biological Activities of Terpenoids from Copaiba (*Copaifera* spp.) Oleoresins. **Molecules**, v.17, n.4, p.3886-3889, 2012.

LIMA, M. C. F. *et al.* Quantificação do β -cariofileno e óxido de cariofileno para o controle de qualidade dos óleos de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 608-623, 2020.

LOURENÇO, A. C. S. *et al.* Óleo de copaíba (*Copaifera langsdorfii* Desf.) em padrões reprodutivos de camundongos e no desenvolvimento embrionário. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 11, n. 4, p. 407-413, 2009.

LUCCA, L. G. **Avaliação da permeação cutânea de nanoemulsão contendo óleo de copaíba incorporada a hidrogéis**. 2013. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; PEREIRA, J. F.; LIMA, H. C. Gênero *Copaifera* (Leguminosae- Caesalpinioideae) na Amazônia Brasileira. **Revista Rodriguésia**, v. 59, n. 3, p. 455-476, 2008.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. A. **Livro Vermelho da Flora do Brasil – Plantas Raras do Cerrado**. Rio de Janeiro. Estúdio: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro: CNCFlora, 2014, 320 p.

NASCIMENTO, A. M. A. *et al.* Synergistic bactericidal activity of *Eremanthus erythropappus* oil or b-bisabolene with ampicillin against *Staphylococcus aureus*. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 92, n. 1, p. 95-100, 2007.

OLIVEIRA, E. C. P.; LAMEIRA, A. O.; ZOGHBY, M. G. B. Identificação da época de coleta do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.) no município de Moju, PA. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. 3, p. 14-23, 2006.

PACHECO, T. A. R.; BARATA, L. E. S.; DUARTE, M. C. T. Antimicrobial activity of copaíba (*Copaifera* spp) balsams. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, n. esp., p. 123-124, 2006.

PEDREIRA, N. E. **Avaliação do efeito inibidor tumoral do óleo resina de copaíba in natura (*Copaifera reticulata*) e manipulado artesanalmente no modelo de carcinogênese bucal experimental DMBA induzida**. 2007. 133 f. Tese (Doutorado em Patologia Bucal) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Unidade Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

PICHETTE, A. *et al.* Composition and antibacterial activity of *Abies balsamea* essential oil. **Phytotherapy Research**, v. 20, n. 5, p. 371-373, 2006.

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.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *Copaifera* L. 2002. **Revista Química Nova**, v. 25, n. 2, p. 273-286, 2002.

SANTOS, A. O. *et al.* Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, n. 3, p. 277-281, 2008.

ZIECH, R. *et al.* Atividade antimicrobiana do oleorresina de copaíba (*Copaifera reticulata*) frente a *Staphylococcus* coagulase positiva isolados de casos de otite em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 7, p. 909-913, 2013.

ZOGHBI, M. G. B. *et al.* Chemical variation in the volatiles of *Copaifera reticulata* Ducke (Leguminosae) growing wild in states of Pará and Amapá, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 6, p. 501-503, 2009.