



Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico da copaíba

Camile Giaretta Sachetti,¹ Maria Luiza Fascineli,² Juliana Alves Sampaio,¹
Osmar Alves Lameira,³ Eloisa Dutra Caldas^{*,1}

¹Laboratório de Toxicologia, Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de Brasília, 70910-900 Brasília-DF, Brasil

²Departamento de Genética e Morfologia, Universidade de Brasília, 70919-970 Brasília-DF, Brasil

³Laboratório de Biotecnologia, Embrapa Amazônia Oriental, 66095-100, Belém-PA, Brasil

RESUMO: O óleo-resina de copaíba obtido do gênero *Copaifera* L., Fabaceae, é largamente utilizado na medicina popular como antiinflamatório, antimicrobiano e antitumoral. Porém, informação sobre seu potencial tóxico são escassos na literatura. O objetivo deste estudo foi estabelecer a toxicidade oral aguda e os possíveis efeitos neurotóxicos relacionados à ingestão do óleo-resina de *Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae, em ratas fêmeas Wistar. O estudo foi conduzido com quinze ratas nulíparas e não prenhes distribuídas nos grupos de doses 300 e 2000 mg/kg *pc* de óleo-resina administrado por gavagem. Os resultados obtidos mostraram que nestas doses não houve sinais clínicos de toxicidade ou neurotoxicidade, alteração no consumo de ração ou alteração no peso corpóreo. A dose letal aguda foi estimada como maior que 2000 mg/kg *pc* e classificada como categoria 5, segundo o Guia OECD 423. Estes resultados indicam que existe uma relativa margem de segurança para o uso do óleo-resina de copaíba como agente terapêutico, embora estudos toxicológicos adicionais sejam ainda necessários, principalmente com a administração repetida de baixas doses.

Unitermos: copaíba, ratos, toxicidade aguda, neurotoxicidade.

ABSTRACT: "Assessment of the neurotoxic potential and acute toxicity of copaiba". Copaiba oil-resin obtained from *Copaifera* L. genus, Fabaceae, is largely used in popular medicine as antiinflammatory, antimicrobial and antitumoral. Information concerning the potential toxicity of this oil is limited in the literature. The goal of this study was to investigate the acute toxicity and the possible neurotoxic effects related to the ingestion of *Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae, oil-resin using female Wistar rats. Fifteen nulliparous virgin rats were used and distributed in the experimental groups orally exposed to doses of 300 e 2000 mg/kg *bw* of oil-resin (gavage). No overt clinical signs of toxicity or neurotoxicity, alteration of food consumption or body weight were observed in the animals at the tested doses. The lethal oral toxicity was estimated to be higher than 2000 mg/kg *bw*, classified as category 5 according to OECD Guide 423. These results indicate that there is a certain safety margin associated with the use of copaiba as therapeutic agent, although additional toxicological studies are still necessary, mainly using repeated low doses.

Keywords: copaiba, rats, acute toxicity, neurotoxicity.

INTRODUÇÃO

Procedimentos clínicos com plantas medicinais têm sido largamente utilizados desde os primórdios da história humana, muitas vezes sem restrições e de forma indiscriminada. A Organização Mundial da Saúde (WHO, 2002) reconhece que até 80% da população de alguns países em desenvolvimento utilizam preparações de plantas medicinais para os cuidados básicos da saúde. É fundamental, porém, o estabelecimento da segurança, eficácia e garantia da qualidade destas preparações, pois seu uso inadequado, sem o conhecimento toxicológico

necessário, pode originar efeitos adversos retardados e/ou assintomáticos (Vendruscolo et al., 2005).

A copaíba é uma das plantas com uso medicinal mais utilizada e conhecida no Brasil (Ming, 1995). São árvores nativas da região tropical da América Latina e África Ocidental, popularmente conhecidas como copaibeira ou pau d'óleo-resina. No Brasil, são encontradas facilmente nas regiões Amazônica e Centro-oeste. O gênero *Copaifera* L. pertence à família Fabaceae Lindl., sub família *Caesalpinioideae* Kunth (Veiga Júnior & Pinto, 2002). O óleo-resina utilizado nas preparações medicinais é um exsudado do tronco destas árvores, apresentando-

*E-mail: eloisa@unb.br; Tel. 61-3307 3671.

se como um líquido transparente cuja coloração varia do amarelo ao marrom e constituído principalmente por misturas de sesquiterpenos e de diterpenos (Veiga Júnior & Pinto, 2002.).

O óleo-resina de copaíba pode ser encontrado nas farmácias de todo o país em diversas apresentações. O seu uso tem sido indicado, entre outros, pela sua ação antiinflamatória (Carvalho et al., 2005; Veiga Júnior et al., 2007), antitumoral (Lima et al., 2003), antimicrobiana (Santos et al., 2008; Tincusi et al., 2002) e atividade antinoceptiva (Gomes et al., 2007). Apesar da existência de estudos da ação terapêutica do óleo-resina de copaíba, os estudos de toxicidade deste produto são escassos na literatura científica; alguns destes estudos obtiveram resultados contraditórios. Segundo Tisserand & Balancs (1995) não há relatos de toxicidade oral, cutânea ou fotossensibilidade devido à administração do óleo-resina de copaíba. A administração de 500 mg/kg peso corpóreo do óleo-resina (*Copaifera multijuga* Hayne e *Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae) em camundongos por via oral não foram relacionadas a alterações comportamentais, perda dos reflexos a luz, aumento ou diminuição da ingestão de água e ração e lesões ou hemorragias no estômago (Gomes et al., 2007). Por outro lado, Souza et al. (2000) observaram que a administração de 0,4 mL do óleo-resina pela via transdiafragmática ocasionou diarreia, piloereção e hemorragia nos animais tratados. Basile et al. (1988), realizaram estudos com a copaíba avaliando a atividade antiinflamatória em ratos e observaram alguns efeitos adversos como irritação gastrintestinal, diarreia, sialorréia e depressão do sistema nervoso central (SNC). Embora esse estudo sugira ação da copaíba sobre o SNC, não foi encontrado até o presente momento estudos que avaliem a neurotoxicidade desta planta.

O objetivo do presente estudo foi determinar a toxicidade aguda (DL50) do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata*) em ratos após administração oral. Adicionalmente, se conduziu uma avaliação preliminar do potencial neurotóxico do óleo-resina nesses animais.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado com quinze ratas fêmeas Wistar saudáveis, com idade entre 90 e 120 d e com variação máxima de peso de 15% (270±41 g), provenientes do Biotério Central da Universidade de Brasília (UNB). Antes do início do estudo, os animais foram aclimatados no biotério na Faculdade de Ciências da Saúde da UNB por um período de 15 d. Os animais foram alocados individualmente em caixas de polipropileno, em condições controladas de luminosidade (12h/12h, claro/escuro), temperatura (23±2 °C) e umidade relativa (±70%) e receberam água potável e ração comercial Purina® *ad libitum*. O manejo e cuidado com os animais seguiram os princípios éticos da experimentação animal segundo critérios estabelecidos pelo Comitê de Ética no Uso Animal

(CEUA) do Instituto de ciências biológicas da UNB, cujo protocolo experimental adotado foi previamente aprovado pelo CEUA.

O óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae) foi fornecido pela Embrapa Amazônia Oriental, sendo um pool de amostras extraídas de plantas do Campo Experimental do Mojú-PA, entre setembro de 2003 a agosto de 2004. O Campo se situa no km 30 da rodovia PA-150, entre as coordenadas geográficas de 2° 08' 14" à 2° 12' 26" de latitude sul e 48° 47' 34" à 48° 14" de longitude a oeste de Greenwich e altitude de 16 m, possuindo uma área total aproximada de 1.095 ha (Costa et al., 1998). As plantas possuíam cerca de 20 m de altura, 260 cm de DAP (Diâmetro na Altura do Peito) e mais de 20 anos de idade. As concentrações de β -cariofileno e β -bisaboleno foram de 45,4 e 12,3%, respectivamente (Oliveria et al., 2006). A responsável pela identificação da espécie foi a Dra. Regina Celia Viana Martins da Silva da Embrapa Amazônia Oriental.

O óleo-resina de copaíba foi diluído em solução Tween 80 2% e o volume final administrado foi fixado em 10 mL/kg peso corpóreo. Aos animais do grupo controle foram administrados 10 mL/kg de Tween 80 2%. Em todos os casos, a administração foi por gavagem.

A toxicidade oral aguda foi realizada conforme o Guia OECD-423/2001 "Toxicidade Aguda de Classe" (OECD, 2001), que determina as doses a serem utilizadas no estudo (5 mg/kg, 50 mg/kg, 300 mg/kg ou 2000 mg/kg) e o número de animais por dose (três ratos fêmeas). A dose inicial selecionada para o estudo foi de 300 mg/kg *pc*, definida a partir de dados de estudos prévios com outras espécies desta planta (Ribeiro et al., 2007; Gomes et al., 2007). A próxima dose testada foi selecionada dependendo da mortalidade observada nas primeiras 24 h de exposição. Cada dose foi testada duas vezes e, finalmente, foi estimado a categoria toxicológica, segundo as especificações do Guia.

Os animais ficaram em jejum por 10 h anteriormente à administração do óleo-resina, com acesso livre apenas água, e a ração foi permitida 3 h após a administração. O peso corporal dos animais foi verificado no dia da administração da copaíba, no sétimo e no décimo quarto dia pós-administração. Durante o período experimental os animais foram examinados diariamente quanto a aos aspectos clínicos, incluindo a postura, convulsões/tremores, consistência e aspecto das fezes, fechamento da pálpebra, piloereção, aspecto da pele e pelos, estresse, salivação, olhos, e comportamento.

Uma hora após a administração, os animais foram avaliados quanto à função comportamental, motora e sensorial para acessar os potenciais efeitos neurotóxicos. Os animais foram avaliados no Campo Aberto observando-se locomoção, tempo de parada, tempo de limpeza, frequência de apoio, passagem pelo quadrante central, bolos fecais (por 5 min); pinçamento da cauda; impressão plantar e endireitamento postural (Moser et al., 1997 a, b, c).

Adicionalmente, foi realizada observação em Labirinto em Cruz Elevado, para avaliar o potencial efeito ansiolítico da copaíba, conduzido por 5 min segundo o aparato descrito por Handley & Mithani (1984).

No décimo quarto dia, os animais foram sacrificados em câmara de CO₂. Durante a necropsia, os órgãos da cavidade corpórea (pulmões, traquéia, coração, estômago, fígado, baço, rins, bexiga, intestino e timo), vísceras, glândulas, vasos, canais e diafragma foram avaliados macroscopicamente quanto ao aspecto, coloração, tamanho e consistência.

Para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais foi utilizado o teste ANOVA seguido pelo teste de Dunnett, com um nível de significância de 5%. Os resultados obtidos foram analisados utilizando o programa GraphPad Software InStat®-version 3.0 (Motulsky, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na menor dose testada (300 mg/kg *pc*), nenhum dos três animais expostos apresentou morbidade ou mortalidade nas primeiras 24 h após a exposição e durante o período do estudo. Desta forma, repetiu-se o teste nesta mesma dose com outros três animais, o que confirmou o resultado anterior. O teste foi então realizado na dose de 2000 mg/kg *pc*, onde não foi verificado morbidade ou mortalidade em nenhum dos três animais testados, resultado confirmado na replicata realizada utilizando-se a mesma dose. Com os resultados obtidos, observamos que a toxicidade oral aguda do óleo-resina de *Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae, é maior que 2000 mg/kg *pc* e classificado como categoria 5, segundo os critérios do protocolo experimental adotado.

Os testes que avaliam a toxicidade aguda são utilizados para classificar e apropriadamente rotular substâncias de acordo com o seu potencial de toxicidade ou letalidade (Valadares, 2006). Para que seus resultados sejam considerados pelas agências regulatórias dos países, é essencial que estes testes sejam conduzidos seguindo protocolos internacionalmente aceitos, como aqueles publicados pela Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (Organization for Economic Co-operation and Development-OECD). No presente estudo, adotou-se o Guia OECD 423 (OECD, 2001), que apresenta boa reprodutibilidade, usa poucos animais e é capaz de classificar as substâncias de acordo com sistemas internacionalmente aceitos (Globally Harmonised System-GHS). O Guia 423, juntamente com os Guias 420 e 425, substituiu o de número 401, introduzido há mais de cinquenta anos e banido definitivamente pela OECD em 2001. Este último, altamente criticado pelas sociedades de proteção aos animais, determina estatisticamente a LD₅₀ (dose que mata 50% da população em estudo), a partir de estudos com grupos de animais (normalmente vinte animais de ambos os sexos por grupo) expostos a doses crescentes da substância em estudo. Os protocolos atualmente

preconizados pela OECD são de grande aceitação pelos órgãos reguladores na avaliação da toxicidade aguda para qualquer tipo de substância, e atende a requisitos da experimentação quanto aos princípios do bem estar animal.

O presente estudo foi o primeiro que avaliou a toxicidade letal aguda do óleo-resina de *Copaifera reticulata* em ratos. Estudos publicados conduzidos com esta e outras espécies de copaíba realizados em camundongos também reportam uma baixa toxicidade aguda desta planta. Num estudo conduzido por Fernandes et al. (1992) com *Copaifera cearensis*, camundongos foram expostos a doses de 1250, 2500, 3700 e 5000 mg/kg *pc* de óleo-resina (dez animais de ambos os sexos/grupo), e a LD₅₀ estimada em 3090 mg/kg *pc*. Gomes et al. (2007) estimaram a LD₅₀ de *Copaifera reticulata* e *Copaifera multijuga* em camundongos em 3900 mg/kg *pc* e 4300 mg/kg *pc*, respectivamente.

No presente estudo não foi observado sinais clínicos de toxicidade nos animais testados durante os quatorze dias após a administração do óleo-resina. Também não foram observadas diferenças significativas no peso corporal (Tabela 1) ou consumo de ração entre os animais das doses testadas (dados não mostrados).

Tabela 1. Média do peso corporal (gramas±desvio padrão) de ratas fêmeas Wistar oralmente expostas ao óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata*) nas doses de 300 e 2000 mg/kg.

	Teste 1		Teste 2		
	Controle	300 mg/ kg <i>pc</i>	2000 mg/ kg <i>pc</i>	300 mg/ kg <i>pc</i>	2000 mg/ kg <i>pc</i>
Dia 0	281,3±1,5 (n = 3)	250,3±1,5 (n = 3)	261,3±6,4 (n = 3)	264,3±8,1 (n = 3)	293,0±8,9 (n = 3)
Dia 7	293±1 (n = 3)	258±8,5 (n = 3)	273,3±21,2 (n = 3)	266,3±11,7 (n = 3)	303,0±5,0 (n = 3)
Dia 14	293±8,2 (n = 3)	257,3±8,4 (n = 3)	279,0±12,7 (n = 3)	267,6±6,6 (n = 3)	305,0±4,6 (n = 3)

No intuito de averiguar a possível relação entre a substância testada e efeitos neurotóxicos, os animais foram avaliados quanto à função motora, sensorial e comportamental após uma hora da administração do óleo-resina de copaíba. Para tanto, os animais foram observados no campo aberto, no labirinto em cruz elevado, assim como, foram avaliados nos testes de pinçamento da cauda, de endireitamento postural e de impressão plantar. O teste de campo aberto é um dos instrumentos mais utilizados na avaliação comportamental e da função motora de animais. Dados como aumento do tempo despendido na parte central do campo aberto é indicação de ansiólise, locomoção aumentada pode ser um indicativo de um efeito estimulante, enquanto diminuição da locomoção e da frequência com que o animal permanece sobre as patas traseiras é relatada como sedação (Prut & Belzung, 2003). Além disso, a ausência de movimento (tempo de parada) é um parâmetro utilizado como indicativo de alto nível de

estresse e a defecação reflete o índice de emoção, sendo relacionada à ativação do sistema simpatomimético (Hall, 1934).

Na Tabela 2 estão sumarizados os resultados obtidos nos grupos experimentais. Não foram observadas alterações significativas dos parâmetros analisados entre os animais dos grupos testados e o controle, não indicando, portanto, alterações neurocomportamentais nos ratos fêmeas. Esses resultados corroboram aqueles reportados por Ribeiro et al. (2007), que não verificaram quaisquer alterações no padrão de comportamento de roedores expostos a óleo-resina e fração volátil de copaíba (espécie não informada) em doses crescentes de 50 a 800 mg/kg *pc*. Entretanto Brito et al. (1999) observaram que a administração oral de 0,63 mL/kg do óleo-resina de copaíba foi capaz de promover irritabilidade nos ratos testados; a espécie de copaíba testada neste não foi indicada pelos autores.

Tabela 2. Parâmetros de neurotoxicidade de ratas fêmeas Wistar, 1 hora após administração oral de óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata*).

	Controle n=3	300 mg/kg n=6	2000 mg/kg n=6
Campo aberto			
Locomoção, n°	41,3±9,6	42,0±8,2	28,7±9,3
Tempo de Parada (seg)	18,5±20,5	29,7±28,1	18,9±17,4
Tempo de Limpeza (seg)	17,4±6,6	16,9±13,1	15,0±9,1
Apoio Patas Traseiras (n°)	20,3±3,8	21,8±6,2	15,7±6,3
Quadrante Central (n°)	2,0±1,0	0,8±1,0	0,7±0,8
Bolos fecais (n°)	0,7±0,6	1,3±1,5	0,2±0,4
Pinçamento da cauda (mseg)	54,7±12,7	533,5±823,9	28,3±8,1
Impressão Plantar			
30 cm	100,6±10,9	85,9±9,4	90,6±20,7
40 cm	114,2±8,6	85,5±10,7	93,7±25,5
Endireitamento Postural (mseg)	48,0±1,7	38,8±1,5	38,7±3,7
Labirinto em cruz-elevada			
Braço Fechado (seg)	275,0±21,7	281,5±24,3	277,5±22,6
Braço Aberto (seg)	0,0±0,0	0,7±1,2	4,2±10,2
Braço Fechado (n°)	2,0±1,0	2,5±1,8	3,7±3,0
Braço Aberto (n°)	0,0±0,0	0,5±0,8	0,3±0,8

No décimo quarto dia da administração do óleo-resina de copaíba, os animais foram submetidos à necropsia e avaliados quanto a alterações macroscópicas de diversos órgãos. Nenhuma alteração foi encontrada nos animais testados no estudo. Brito et al. (2001) reportou que a administração de 0,63 mL/kg *pc* em ratos por quatorze dias consecutivos está relacionada a alterações gástricas, como diminuição das pregas da mucosa e diminuição de vasos congestos.

CONCLUSÕES

Os resultados de toxicidade aguda demonstraram que a administração do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae) não causou mortalidade e/ou morbidade até a dose testada de 2000 mg/kg *pc* e foi categorizada como “categoria 5”, ou seja, toxicidade letal aguda maior que 2000 mg/kg *pc*. O óleo resina não apresentou efeitos neurotóxicos nas doses testadas, avaliada pela atividade motora, sensorial e comportamental. Desta maneira, o óleo-resina de *Copaifera reticulata* apresenta uma relativa margem de segurança para a utilização como agente terapêutico, embora outros estudos sejam necessários para o estabelecimento da sua eficácia terapêutica sem o acometimento de efeitos colaterais, principalmente após a exposição repetida a baixas doses.

REFERÊNCIAS

- Basile AC, Sertié JA, Freitas PCD, Zanini AC 1988. Anti-inflammatory activity of oleoresin from *Brazilian copaifera*. *J Ethnopharmacol* 22: 101-109.
- Brito MVH, Oliveira RVB, Morais MR, Lameira AO 1999. Efeito do óleo-resina de copaíba no comportamento de ratos. *Rev Para Med* 13: 34-37.
- Brito MVH, Oliveira RVB, Morais MR, Miranda JS, Reis JMC 2001. Análise gástrica após administração de copaíba: estudo experimental em ratos. *Gastroenterol Endosc Dig* 20: 78-82.
- Carvalho JCT, Cascon V, Possebon LS, Morimoto MSS, Cardoso LGV, Kaplan MAC, Gilbert B 2005. Topical antiinflammatory and analgesic activities of *Copaifera duckei* Dwyer. *Phytother Res* 19: 946-950.
- Costa DH, Ferreira CAP, Silva JNM, Lopes J do CA 1998. *Potencial madeireiro de floresta densa no município de Mojú, Estado do Pará*. Belém: Embrapa-CPATU.
- Fernandes RM, Pereira NA, Paulo LG 1992. Anti-inflammatory activity of copaiba balsam (*Copaifera cearensis* Huber). *Rev Bras Farmacogn* 73: 53-56.
- Gomes NM, Rezende CM, Fontes SP, Matheus ME, Fernandes PD 2007. Antinociceptive activity of amazonian copaiba oils. *J Ethnopharmacol* 109: 486-492.
- Hall CS 1934. Emotional behavior in the rat 1. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J Comp Psychol* 18: 382-403.
- Handley SL, Mithani S 1984. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of ‘fear’-motivated behaviour. *N-S Arch Pharmacol* 327: 1-5.
- Lima SRM, Veiga Junior VF, Christo HB, Pinto AC, Fernandes PD 2003. *In vivo* and *in vitro* studies on the anticancer activity of *Copaifera multijuga* Hayne and its fractions. *Phytother Res* 17: 1048-1053.
- Ming LC 1995. Levantamento de plantas medicinais na reserva extrativista “Chico Mendes”-Acre. Botucatu, 180 p. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de São Paulo, *apud*

- Veiga-Júnior VF, Pinto AC 2002. O gênero *Copaifera* L. *Quim Nova* 25: 273-286.
- Moser VC, Tilson H, Mcphail RC, Becking GC, Cuomo V, Frantik EB, Kulig BM, Winneke G 1997a. The IPCS collaborative study on neurobehavioral screening methods: II. Protocol design and testing procedures. *Neurotoxicology* 18: 929-938.
- Moser VC, Becking GC, Cuomo V, Franti'K E, Kulig BM, Mcphail RC, Tilson HA, Winneke G, Brightwell WS, Cagiano R, Gill MW, Haggerty GC, Hornychova M, Lammers J, Larsen JJ, Mcdaniel KL, Nelson BK, Ostergaard G 1997b. The IPCS collaborative study on neurobehavioral screening methods: III. Results of proficiency studies. *Neurotoxicology* 18: 939-946.
- Moser VC, Becking GC, Cuomo V, Franti'K E, Kulig BM, Mcphail RC, Tilson HA, Winneke G, Brightwell MA, De Salvia R, Gill Mw, Haggerty GC, Hornychova M, Lammers J, Larsen JJ, Mcdaniel KL, Nelson BK, Ostergaard G 1997c. The IPCS collaborative study on neurobehavioral screening methods: V. results of chemical testing. *Neurotoxicology* 18: 969-1056.
- Motulsky H 1998. *InStat guide to choosing and interpreting statistical tests*. San Diego California: GraphPad Software.
- OECD(Organization foreconomicco-operationanddevelopment) 2001. *Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method*. Guideline: 423. http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECD_GL423.pdf. Acesso em março de 2008.
- Oliveira ECP, Lameira AO, Zoghbi MGB 2006. Identificação da época de coleta do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.) no município de Moju, PA. *Rev Bras Plantas Med* 8:14-23.
- Prut L, Belzung C 2003. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 463: 3-33.
- Ribeiro FB, Mestriner ACD, Freitas O, Ramos MFS, Mestriner Junior W 2007. *Estudo de toxicidade aguda da Oleoresina de copaíba e fração volátil*. 15º Simpósio internacional de iniciação científica da USP, Ribeirão Preto-SP.
- Santos AO, Ueda-Nakamura T, Dias Filho BP, Veiga Junior VF, Pinto AC, Nakamura CV 2008. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 103: 277-281.
- Souza Júnior OG, Garcia L, Damous SH 2000. Colite induzida por ácido acético e tratada com enema de óleo-resina de copaíba. *An Fac Med Univ Fed Pernamb* 45: 131-135.
- Tincusi BM, Jiménez IA, Bazzocchi IL, Mujir LM, Mamani ZA, Barroso JP, Ravelo AG, Hernández BV 2002. Antimicrobial terpenoids from the oleoresin of the Peruvian Medicinal Plant *Copaifera paupera*. *Planta Med* 68: 808-812.
- Tisserand R, Balancs T 1995. *Essential oil safety: a guide for health care professionals*. Edinburgh: Churchill Livingstone.
- Valadares MC 2006. Avaliação de toxicidade aguda: Estratégias após a "Era do Teste DL50". *Rev Elettron Farm* 3: 93-98.
- Veiga Júnior VF, Pinto AC 2002. O gênero *Copaifera* L. *Quim Nova* 25: 273-286.
- Veiga Junior VF, Rosas EC, Carvalho MV, Henriques MGMO, Pinto AC 2007. 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* 112: 248-254.
- Vendruscolo GS, Rates SMK, Mentz LA 2005. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Rev Bras Farmacogn* 15: 361-372.
- WHO (World health organization) 2002. Traditional medicine strategy 2002-2005. http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1.pdf. Acesso em setembro de 2008.