UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Estudo químico e desenvolvimento de métodos analíticos
validados em cromatografia para análise de oleorresinas e extratos
de folhas de espécies de *Copaifera***

Jonas Joaquim Mangabeira da Silva

Ribeirão Preto-SP

2017

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Estudo químico e desenvolvimento de métodos analíticos
validados em cromatografia para análise de oleorresinas e extratos
de folhas de espécies de *Copaifera***

Tese de Doutorado apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Produtos Naturais e
Sintéticos.

Orientado: Jonas Joaquim Mangabeira da Silva

Orientador: Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos

**Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas em 28/09/2017. A versão original encontra-se disponível
na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.**

Ribeirão Preto-SP

2017

FICHA CATALOGRÁFICA

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Silva, Jonas Joaquim Mangabeira

Estudo químico e desenvolvimento de métodos analíticos validados em cromatografia para análise de oleorresinas e extratos de folhas de espécies de *Copaifera*, Ribeirão Preto, 2017.

192 p.; 30cm.

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Bastos, Jairo Kenupp.

1. *Copaifera*. 2. Métodos analíticos. 3. Cromatografia líquida e gasosa. 4. Validação.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do aluno: Jonas Joaquim Mangabeira da Silva

Título do trabalho: Estudo químico e desenvolvimento de métodos analíticos validados em cromatografia para análise de oleorresinas e extratos de folhas de espécies de *Copaifera*.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Produtos Naturais e Sintéticos.

Orientador: Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos

Aprovado em: ____/____/____.

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

RESUMO

SILVA, J. J. M. **Estudo químico e desenvolvimento de métodos analíticos validados em cromatografia para análise de oleorresinas e extratos de folhas de espécies de *Copaifera***. 2017. 195f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

As copaíferas fazem parte de um importante gênero de plantas que produzem um exsudato denominado como oleorresina, que é constituído por uma mistura de sesquiterpenos e diterpenos ácidos. A medicina popular utiliza a oleorresina de diferentes espécies de *Copaifera* com diversas indicações, tais como: ação anti-inflamatória, antimicrobiana, cicatrizante, antitumoral, entre outras. Desta forma, numerosos pesquisadores têm investigado a composição química e as atividades biológicas e toxicológicas deste produto natural, a fim de reconhecer os benefícios e a segurança deste produto. Todavia, estudos da composição química e das atividades biológicas dos constituintes das folhas são escassos. Assim, neste projeto buscou-se investigar a composição química de diferentes extratos de folhas e de oleorresinas de copaíferas coletadas na flora brasileira, bem como produtos comerciais (óleo de copaíba) propondo e aplicando métodos analíticos em cromatografia para determinação dos principais constituintes das amostras. Dez amostras de folhas e oleorresinas autênticas de diferentes espécies foram coletadas no norte e sudeste do Brasil (*C. langsdorffii* Desf., *C. duckei* Dwyer, *C. reticulata* Ducke, *C. multijuga* Hayne, *C. paupera* (Herzog) Dwyer, *C. pubiflora* Benth, *C. lucens* Dwyer, *C. oblogifolia* Mart, *C. trapezifolia* Hayne, e *Copaifera* sp.) e mais seis amostras comerciais foram adquiridas. Os compostos voláteis foram separados da oleorresina bruta utilizando-se o aparelho de Clevenger. Os padrões cromatográficos foram isolados utilizando-se diferentes modalidades cromatográficas. As oleorresinas de *C. multijuga* e *C. langsdorffii* apresentaram os maiores teores de óleo volátil das amostras com 92 e 72%, respectivamente. Três diterpenos foram isolados da oleorresina de *C. duckei*: os ácidos *ent*-poliáltico, *ent*-diidroagático e *ent*-agático-15-metil éster. Uma análise qualitativa foi otimizada usando microextração em fase sólida seguido de análise em CG-EM, a qual revelou a presença em comum do α -copaeno, β -elemeno, β -cariofileno e α -bergamoteno em todas as amostras de oleorresina analisadas. Dois métodos analíticos utilizando CLUE-EM/EM e CG-DIC foram desenvolvidos, otimizados e validados para análise de nove diterpenos ácidos e quatro sesquiterpenos, os quais apresentaram adequada seletividade/especificidade, faixa de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão. Todavia, em ambos os métodos há necessidade de controle rigoroso das condições analíticas dos sistemas cromatográficos. Os resultados obtidos aplicando os dois métodos indicaram a presença frequente do β -cariofileno e dos ácidos *ent*-copálico e *ent*-caurenoico como as substâncias mais encontradas em oleorresinas de copaíferas autênticas e comerciais. A análise qualitativa empregando CLUE-EM indicou a presença dos ácidos di-*O*-metil-3,5-di-*O*-galoilquínico (AGQ-8), 5',5''-di-*O*-metil-4,5-di-*O*-galoilquínico (AGQ-9), 5',5'',5'''-tri-*O*-metil-3,4,5-tri-*O*-galoilquínico (AGQ-16), afzelina e quercitrina nos extratos das folhas de nove amostras de copaíferas. Os métodos analíticos desenvolvidos são confiáveis para as análises dos componentes fixos e voláteis e os resultados obtidos neste trabalho confirmam a variabilidade da composição química das oleorresinas desse gênero vegetal.

Palavras-chave: *Copaifera*, métodos analíticos, cromatografia líquida e gasosa validação.

ABSTRACT

SILVA, J. J. M. **Chemical study and development of analytical methods validated in chromatography for analysis of oleoresins and leaf extracts of the *Copaifera* species.** 2017. 195f. Thesis (Doutorado). School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto – University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2017.

Copaifera plants are part of an important genus that produces an exsudate called oleoresin, which consists of a mixture of sesquiterpenes and acid diterpenes. Folk medicine uses the oleoresin of different *Copaifera* species for different health problems, such as: anti-inflammatory, antimicrobial, wound healing and antitumor, among others. Thus, numerous researchers have investigated the chemical composition, biological and toxicological activities of this natural product in order to recognize its benefits and safety. However, investigation of chemical composition and biological activities of leaf constituents are scarce. In this project we aimed to investigate the chemical composition of different leaf extracts and *Copaifera* oleoresins collected in the Brazilian flora and acquired in the market (copaíba oil) by proposing and applying chromatographic analytical methods to determine their main constituents. Ten samples of leaves and authentic oleoresins of different species were collected in northern and southeastern parts of Brazil (*C. langsdorffii* Desf., *C. duckei* Dwyer, *C. reticulata* Ducke, *C. multijuga* Hayne, *C. paupera* (Herzog) Dwyer, *C. pubiflora* Benth, *C. lucens* Dwyer, *C. oblogifolia* Mart, *C. trapezifolia* Hayne, e *Copaifera* sp.) and six commercial samples were purchased. The volatile fraction of the crude oleoresin was obtained by using Clevenger apparatus, and the chromatographic standards were isolated by using different chromatographic techniques. The oleoresins of *C. langsdorffii* and *C. multijuga* displayed the highest volatile oil contents. Three diterpenes were isolated from *C. duckei* oleoresin: *ent*-polialthic, *ent*-dihydroagathic and *ent*-agathic-15-metil ester acids. A qualitative analysis was optimized using solid phase micro-extraction followed by GC-MS analysis, which revealed the presence of α -copaene, β -elemene, β -caryophyllene and α -bergamotene in all investigated oleoresins. Two analytical methods using UPLC-MS/MS and GC-FID were developed, optimized and validated for the analysis of nine acid diterpenes and four sesquiterpenes, which gave adequate selectivity/specificity, range, limit of detection, limit of quantification, precision and accuracy. However, in both methods there is a need for rigorous control of the analytical conditions. The results generated by the two methods indicated the frequent presence of β -caryophyllene, *ent*-copalic and *ent*-kaurenoic acids as the compounds frequently found in authentic and commercial *Copaifera* oleoresins. Qualitative analysis of leaf extracts using UPLC-MS/MS indicated the presence of 5',5''-di-*O*-methyl-3,5-di-*O*-galloylquinic acid (GQA-8), 5',5''-di-*O*-methyl-4,5-di-*O*-galloylquinic acid (GQA-9), 5',5'',5'''-tri-*O*-methyl-3,4,5-tri-*O*-galloylquinic acid (GQA-16), afzelin and quercetrin in all studied species. The analytical developed methods are reliable for the analyses of both fixed and volatile compounds of the oleoresins. The obtained results confirm the variability among the composition of the *Copaifera* oleoresins.

Keywords: *Copaifera*, analytical methods, liquid and gas chromatography, validation.

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais pela população como alternativa para tratamento de diversas doenças tem sido relatado há milhares de anos. No entanto, a busca por componentes ativos presentes em plantas medicinais iniciou no século passado, levando assim à concepção do primeiro medicamento com as características que conhecemos hoje (DUTRA et al., 2016).

As observações populares sobre o uso e a eficácia das plantas medicinais contribuem de forma relevante para a divulgação das propriedades terapêuticas dos vegetais, sendo estas prescritas e administradas com frequência pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de em muitos casos não haver a identificação completa dos seus constituintes químicos. Desta forma, usuários de plantas medicinais de todo mundo mantêm em voga a prática do consumo de plantas (fitoterápicos), tornando válidas as informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (MACIEL et al., 2002; DUTRA et al., 2016).

As plantas conhecidas popularmente como: copaíba, copaibeiras, copaíferas, pau d'óleo, entre outras denominações, pertencem ao gênero *Copaifera* (Fabaceae – Caesalpinioideae), o qual tem ocorrência na África, nas Américas Central e do Sul, e provavelmente, na Ásia; sendo 28 espécies descritas somente no Brasil (MARTINS-DASILVA, PEREIRA e LIMA, 2008; LEANDRO et al., 2012; LEMOS, et al., 2015). As árvores desse gênero apresentam grande importância social, econômica e medicinal em virtude da produção de um exsudato extraído do tronco sendo constituído de uma mistura de ácidos resinosos e substâncias voláteis (mistura de diterpenos ácidos e sesquiterpenos, respectivamente), denominado de oleorresina, que possui composição variável em função de fatores bióticos e abióticos (PLOWDEN, 2003; LEANDRO et al., 2012).

A oleorresina é empregada na medicina popular com as mais diversas indicações terapêuticas, tais como: cicatrizante, anti-inflamatório, antimicrobiano, antitumoral, gastroprotetor, entre outras. Em virtude dessas propriedades, este produto natural vem sendo foco de numerosas investigações científicas, principalmente no que tange o a composição química, os efeitos medicinais e/ou toxicológicos (TAPPIN et al., 2004; MARTINS-DASILVA, PEREIRA; LIMA, 2008; LEANDRO et al., 2012; LEMOS, et al., 2015).

No contexto do estudo químico, diversas técnicas vêm sendo aplicadas para caracterizar a composição e determinar as quantidades de seus constituintes, auxiliando desta forma no reconhecimento das substâncias ativas das oleorresinas. Entre as técnicas classicamente utilizadas para análise desse produto destacam-se a cromatografia líquida em

coluna clássica, cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência (SOUSA et al., 2011; BALDISSERA et al. 2014); porém o desenvolvimento de métodos analíticos para o estudo da composição química de oleorresinas de *Copaifera* são poucos.

Embora diversos estudos tenham demonstrado a necessidade de garantir segurança aos produtos de origem vegetal, a aplicação e validação de métodos analíticos para matérias-primas advindas de plantas são escassos na literatura, incluindo as oleorresinas de copaíferas (BARA et al., 2006). Para tanto, a validação deve atender os seguintes parâmetros: especificidade, linearidade, faixa de trabalho, precisão, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão, conforme preconiza a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial e órgãos internacionais a exemplo da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), a Organização Internacional para Padronização (ISO) e a Conferência Internacional em Harmonização (ICH), entre outras agências (BRASIL, 2003; PASCHOAL et al., 2008; KRUBE et al., 2015).

Desta forma, no presente trabalho propôs-se desenvolver, aperfeiçoar e validar diferentes métodos cromatográficos acoplados a diferentes detectores visando indicar as diferenças de composição química em amostras de oleorresinas autênticas coletadas no território brasileiro, bem como de produtos comercializados (óleo de Copaíba) de forma simples, rápida e direta.

Destaca-se que a presente tese é parte integrante do desenvolvimento do Projeto Temático da FAPESP “Validação química e farmacológica de extratos e princípios ativos de espécies de *Copaifera*”, Processo nº 2011/13630-7, sob coordenação do Prof. Dr. Jairo Kenupp Bastos.

2 CONCLUSÕES

O presente estudo de investigação da composição química de folhas e oleorresinas do gênero *Copaifera* gerou resultados que possibilitaram as seguintes conclusões:

1. O rendimento de coleta da oleorresina de diferentes espécies de *Copaifera* foi consideravelmente variável entre as espécies distribuídas no território brasileiro, sendo as espécies presentes na região norte do Brasil as mais promissoras em relação à produção do referido exsudato;

2. As oleorresinas de *Copaifera* possuem teores variáveis das frações volátil (óleo volátil) e fixa (resina), das quais, as amostras de oleorresina de *C. multijuga* e *C. langsdorffii* foram as que apresentaram os maiores teores relativos de óleo volátil;

3. A combinação das técnicas de cromatografia em fase líquida empregando coluna de vidro clássica e cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com detector UV/Vis, permitiu o fracionamento e isolamento de três constituintes principais da oleorresina de *C. duckei*, sendo técnicas apropriadas para o isolamento de componentes químicos desse produto vegetal;

4. Os dados experimentais de ressonância magnética nuclear unidimensional (^1H e ^{13}C) e bidimensionais (HSQC e HMBC), em comparação com dados da literatura permitiram a identificação dos diterpenos: ácido *ent*-poliáltico, ácido *ent*-diidroagático e o ácido *enti*-agático-15-metil éster;

5. O emprego e otimização da técnica de micro extração em fase sólida utilizando fibra de sílica fundida com revestimento de polidimetilsiloxano (PDMS), seguido de análise usando cromatografia em fase gasosa acoplado a espectrometria de massas (CG-EM), possibilitou a análise qualitativa simples, direta, rápida e reprodutiva para a determinação dos componentes voláteis de oleorresinas de *Copaifera*, sendo, portanto uma excelente alternativa aos procedimentos clássicos de análises das substâncias voláteis desse produto natural;

6. Por meio da análise de MEFS-CG-EM foi possível constatar que os componentes voláteis das oleorresinas são predominantemente da classe dos sesquiterpenos, com destaque para o α -copaeno, β -elemeno, β -cariofileno e α -bergamoteno, dados estes que estão de acordo com a literatura científica;

7. O método CLUE-EM/EM desenvolvido e otimizado para análise de nove diterpenos ácidos em oleorresinas de *Copaifera* apresentou parâmetros adequados de validação como especificidade, linearidade, precisão, precisão e limites de detecção e quantificação na escala de nanograma por mililitro. Todavia, fatores como temperatura e modificadores de fase

móvel devem ser controlados rigorosamente para a manutenção da precisão analítica. Além disso, 10 amostras de oleorresinas autênticas e seis amostras comerciais foram analisadas; sendo observadas diferenças qualitativas e quantitativas entre todas as amostras investigadas, nas quais os ácidos *ent*-caurenoico, *ent*-poliáltico e *ent*-copálico foram as substâncias que mais influenciaram nessa diferença, demonstrando que o método CLUE-EM/EM proposto é uma ferramenta analítica adequada para auxiliar na determinação da composição química das amostras de oleorresina de *Copaifera*;

8. Uma outra ferramenta analítica, o método CG-DIC foi desenvolvido e otimizado para quantificação direta de α -copaeno, β -elemeno, β -cariofileno e α -humuleno em amostras de oleorresinas de *copaíferas* apresentou parâmetros adequados de validação. Todavia, os valores nas figuras de mérito LOD e LOQ foram superiores ao descrito pela literatura. Assim, como no método CLUE-EM/EM, as condições analíticas propostas para o sistema CG-DIC devem ser igualmente controladas para a manutenção da confiabilidade dos resultados gerados. Quinze amostras de oleorresinas foram analisadas, utilizando o método CG-DIC, sendo possível observar: [1] o sesquiterpeno β -cariofileno é a substância frequentemente detectada e quantificada, mas [2] apresentaram diferenças quantitativas;

9. Os dados da análise qualitativa empregando CLUE-EM/EM para análise de extrato das folhas indicou a presença de ácidos galoilquínicos e flavonoides em todas as espécies investigadas, dados estes que concordam com a literatura. Entre as substâncias presentes destacam-se o ácido di-*O*-metil-3,5-di-*O*-galoilquínico (AGQ-8), ácido 5',5''-di-*O*-metil-4,5-di-*O*-galoilquínico (AGQ-9), ácido 5',5'',5'''-tri-*O*-metil-3,4,5-tri-*O*-galoilquínico (AGQ-16), afzelina e quercitrina.

Então, o objetivo do desenvolvimento e validação dos métodos CLUE-EM/EM e CG-DIC para a análise de nove diterpenos ácidos e quatro sesquiterpenos em oleorresinas de *copaíferas* foi fornecer uma ferramenta analítica para a identificação, separação e quantificação dos principais componentes químicos presentes em amostras de oleorresina do gênero *Copaifera* para auxiliar na verificação da qualidade deste produto; permitindo que a comunidade científica, empresas privadas e agências reguladoras utilizem os dados apresentados no auxílio da investigação e regularização desse importante produto natural oriundo da biodiversidade brasileira.

Portanto, a investigação da composição química tanto do extrato das folhas quanto das oleorresinas do gênero *Copaifera* faz-se necessária, uma vez que a variação nos constituintes é comumente reportada, sendo esses produtos objeto de investigação quanto as suas propriedades

biológicas, tornando assim importante o desenvolvimento de técnicas analíticas que auxiliem na determinação direta e confiável da composição química dos produtos desse importante gênero de plantas da flora brasileira (Apêndice 41).

3 REFERÊNCIAS

ABRÃO, F.; COSTA, L. D. A.; ALVES, J. M.; SENEDESE, J. M.; CASTRO, P. T.; AMBRÓSIO, S. R.; VENEZIANI, R. C. S.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C.; MARTINS, C. H. G. *Copaifera langsdorffii* oleoresin and its isolated compounds: antibacterial effect and antiproliferative activity in cancer cell lines. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. v. 15, n. 443, p. 1-10, 2015.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy**. New York-NY: Allured Publishing Corporation, 2007.

BALDISSERA, M. D.; OLIVEIRA, C. B.; TONIN, A. A.; WOLKMER, P.; LOPES, S. T. A.; FIGHERA, R.; FLORES, M. M.; OLIVEIRA, E. C. P.; SANTOS, R. C. P.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; MONTEIRO, S. G.; DA SILVA, A. S. Toxic effect of essential oils (*Copaifera spp.*) in the treatment of mice experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. **Biomedicine & Preventive Nutrition**. v. 4, n. 1, p. 319 – 324, 2014.

BARBOSA, K. S.; YOSHIDA, M.; SCULDELLER, V. V. Detection of adulterated copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) oil-resins by refractive index and thin layer chromatography. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 19, n. 1, p. 57-60, 2009.

BARBOSA, P. C. S.; MEDEIROS, R.; SAMPAIO, P. T. B.; VIEIRA, G.; WIEDEMANN, L. S. M.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Influence of abiotic factors on the chemical composition of copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne): soil composition, seasonality and diameter at breast height. **Journal of Brazilian Chemistry Society**. v. 23, n. 10, p. 1823-1833, 2012.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**. v. 32, n. 3, p. 679 – 688, 2009.

BASTARD, J.; DUC, D. K.; FETIZON, M.; FRANCIS, M. J.; GRANT, P. K.; WEAVERS, R. T.; KANEKO, BARDDLEY, G. V.; BERNASSAU, J. M.; BURFITT, I. V.; WOVKULIC, P. M.; WENKERT, E. CMR spectroscopy of labdanic diterpenes and related substances. **Journal Natural Products**. v. 47, n. 4, p. 592-599, 1984.

BORGES, C. H. G.; CRUZ, M. G.; CARNEIRO, L. J.; SILVA, J. J. M.; BASTOS, J. K.; TAVARES, D. C.; OLIVEIRA, P. F.; RODRIGUES, V.; VENEZIANI, R. C. S.; PARREIRA, R. L. T.; CARAMORI, G. F.; NAGURNIAK, G. R.; MAGALHÃES, L. G.; AMBRÓSIO, S. R. *Copaifera duckei* Oleoresin and Its Main Nonvolatile Terpenes: *In Vitro* Schistosomicidal Properties. **Chemistry & Biodiversity**. v. 13, n. 10, p. 1348-1356, 2016.

BRANCALION, A. P. S.; OLIVEIRA, R. B.; SOUSA, J. P. B.; GROPPPO, M.; BERRETTA, A. A.; BARROS, M. E.; BOIM, M. A.; BASTOS, J. K. Effect of hydroalcoholic extract from *Copaifera langsdorffii* leaves on urolithiasis induced in rats. **Urological Research**. v. 40, n. 5, p. 475-481, 2012.

BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. (RE nº 899, de 29 de maio de 2003). Brasília-DF, 2003.

BREITMAIER, E. Terpenes: importance, general structure, and biosynthesis. In: **Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones**. Weinheim: WileyVCH Verlag GmbH & Co. KGaA. p. 1-9, 2006.

CARRERAS, C. R.; ROSSOMANO, P. C.; GIORDANO, O. S. *Ent-labdanes in Eupatorium buniifolium*. **Phytochemistry**. v. 48, n. 6, p. 915-1086, 1998.

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, 2000.

CAVALCANTI, B. C.; COSTA-LOTUFO, L. V.; MORAES, M. O.; BURBANO, R. R.; SILVEIRA, E. R.; CUNHA, K. M. A.; RAO, V. S. N.; MOURA, D. J.; ROSA, R. M.; HENRIQUES, J. A. P.; PESSOA, C. Genotoxicity evaluation of kaurenoic acid, a bioactive diterpenoid present in Copaiba oil. **Food and Chemical Toxicology**. v. 44, n. 3, p. 388-392, 2006.

CHAMBERS, M. C.; MACLEAN, B.; BURKE, R.; AMODEI, D.; RUDERMAN, D. L.; NEUMANN, S.; GATTO, L.; FISCHER, B.; PRATT, B.; EGERTSON, J.; HOFF, K.; KESSNER, D.; TASMAN, N.; SHULMAN, N.; FREWEN, B.; BAKER, T. A.; BRUSNIAK, M. Y.; PAULSE, C.; CREASY, D.; FLASHNER, L.; KANI, K.; MOULDING, C.; SEYMOUR, S. L.; NUWAYSIR, L. M.; LEFEBVRE, B.; KUHLMANN, F.; ROARK, J.; RAINER, P.; DETLEV, S.; HEMENWAY, T.; HUHMER, A.; LANGRIDGE, J.; CONNOLLY, B.; CHADICK, T.; HOLLY, K.; ECKELS, J.; DEUTSCH, E. W.; MORITZ, R. L.; KATZ, J. E.; AGUS, D. B.; MACCOSS, M.; TABB, D. L.; MALLICK, P. A cross-platform toolkit for mass spectrometry and proteomics. **Nature Biotechnology**. v. 30, n. 10, p. 918–920, 2012.

CHAUHAN, A.; MITTU, B.; CHAUHAN, P. Analytical method development and validation: a concise review. **Analytical & Bioanalytical**. v. 6, n. 1, p. 1-5, 2015.

CHEN, F.; AL-AHMAD, H.; JOYCE, B.; ZHAO, N.; KÖLLNER, T. G.; DEGENHARDT, J.; STEWART, C. N. Within-plant distribution and emission of sesquiterpenes from *Copaifera officinalis*. Plant **Physiology and Biochemistry**. v. 47, n. 11-12, p. 1017-1023, 2009.

CHENG, A. X.; LOU, Y. G.; MAO, Y. B.; LU, S.; WANG, L. J.; CHEN X. Y. Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions. **Journal of integrative plant biology**. v. 42, n. 2, p. 179-186, 2007.

CLEMENT, R. E. **Gas chromatography: biochemical, biomedical and clinical application**. New York: John Wiley and Sons Inc., 1990.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas-SP: Editora da UNICAMP, 2006

D'AGOSTINO, M. F.; SANZ, J.; SANZ, M. L.; GIUFFRÈ, A. M.; SICARI, V.; SORIA, A. C. Optimization of a solid-phase microextraction method for the gas chromatography–mass spectrometry analysis of blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott) fruit volatiles. **Food Chemistry**. v. 178, n. 1, p. 10-17, 2015.

DEIWCK, P. M. The mevalonate and methylerythritol phosphate pathways: terpenoids and steroids. In: DEIWCK, P. M. (Org.). **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3ª Ed. New York, NY: John Wiley & Sons. p. 187-310. 2009.

DIAS, D. O.; COLOMBO, M.; KELMANN, R. G.; SOUZA, T. P.; BASSANI, V. L.; TEIXEIRA, H. F.; VEIGA-JUNIOR, V. F.; LIMBERGER, R. P.; KOESTER, L. S. Optimization of headspace solid-phase microextraction for analysis of β -caryophyllene in a nanoemulsion dosage form prepared with copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne) oil. **Analytica Chimica Acta**. v. 721, p. 79-84, 2012.

DUTRA, R. C.; CAMPOS, M. M.; SANTOS, A. R. S. CALIXTO, J. B. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacological Research**. v. 112, n. 1, p. 4-24, 2016.

EURL – Europe Union Reference Laboratories. SANTE/11945/2015 - **Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. 2015.

FDA - Food and Drug Administration (EUA). **Reviewer guidance – Validation of chromatographic methods**. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). 1994.

FDA - Food and Drug Administration (EUA). **Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics Guidance for Industry**. Pharmaceutical Quality/CMC de julho 2015. 2015.

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; REIS, P. S.; SOUZA, A. S.; SANTOS, W. N. L. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**. v. 597, n. 2, p. 179-186, 2015.

FIDYT, K.; FIEDOROWICZ, A.; STRZADAŁA, L.; SZUMNY, A. β -caryophyllene and β -caryophyllene oxide-natural compounds of anticancer and analgesic properties. **Cancer Medicine**. v. 5, n. 10, p. 3007-3017, 2016.

Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>>. Acesso em: 21 de outubro de 2016.

GALÚCIO, C. S.; BENITES, C. I.; RODRIGUES, R. A. F.; MACIEL, M. R. W. Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba a partir da destilação molecular. **Química Nova**. v. 39, n. 7, p. 795-800, 2016.

GARCIA-ESTEBAN, M.; ANSORENA, D.; ASTIASARÁN, I.; RUIZ, J. Study of the effect of different fiber coatings and extraction conditions on dry cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). **Talanta**. v. 64, n. 2, p. 458-466, 2004.

GARCIA, P. L.; BUFFONI, E.; GOMES, F. P.; QUERO, J. L. V. Analytical Method Validation. In: AKYAR, I. (Ed) *Wide Spectra of Quality Control*. Rijeka-Croácia: In Tech, p. 3-20, 2011.

GARDNER, D. R.; PANTER, K. E.; STEGELMEIER, B. L. Implication of agathic acid from Utah juniper bark as an abortifacient compound in cattle. **Journal Applied Toxicology**. v. 30, n. 2, p. 115-119, 2010.

GELMINI, F.; BERETTA, G.; ANSELMi, C.; CENTINI, M.; MAGNI, P.; RUSCICA, M.; CAVALCHINI, A.; MAFFEI, F. R. GC-MS profiling of the phytochemical constituents of the oleoresin from *Copaifera langsdorffii* Desf. and a preliminary in vivo evaluation of its antipsoriatic effect. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 440, n. 2, p. 170-178, 2013.

GONÇALVES, E. S.; SILVA, J. R.; GOMES, C. L.; NERY, M. B. L.; NAVARRO, D. M. A. F. SANTOS, G. K. N.; SILVA-NETO, J. C.; COSTA-SILVA, J. H.; ARAÚJO, A. V.; WANDERLEY, A. G. Effects of the oral treatment with *Copaifera multijuga* oil on reproductive performance of male Wistar rats. **Brazilian Journal Pharmacognosy**. v. 24, n. 3, p. 355-362, 2014.

GONZÁLEZ-BURGOS, E.; GÓMEZ-SERRANILLOS, M. P. Terpene compounds in nature: a review of their potential antioxidant activity. **Current Medicinal Chemistry**. V. 19, n. 31, 5319-5343, 2012.

HERRERO-JAUREGUI, C.; CASADO, M. A.; ZOGHBI, M. G. B.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. Chemical variability of *Copaifera reticulata* Ducke oleoresin. **Chemistry & Biodiversity**. v. 8, n. 1, p. 674-685, 2011.

HEYDEN, Y. V.; NIJHUIS, A.; SMEYERS-VERBEKE, J.; VANDEGINSTE, B. G.; MASSART, D.L. Guidance for robustness/ruggedness tests in method validation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 24, n. 1, p. 723-753, 2001.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Banco de dados agregados – Produção da extração vegetal e silvicultura – Tabela 289 - Quantidade produzida e valor da produção na extração vegetal, por tipo de produto extrativo - Ano 1990 a 2015**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo9.asp?e=c&p=VS&z=t&o=18>>. Acesso em: 01 de dezembro de 2016.

ICH - International Conference of harmonization. **Harmonized tripartite guideline: validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)**. International Conference of harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, 2005.

KANDI, S.; GODISHALA, V.; RAO, P.; RAMANA, K. V. Biomedical significance of terpenes: an insight. **Biomedicine and Biotechnology**. v. 3, n. 1, p. 8-10, 2015.

KESSNER, D.; CHAMBERS, M.; BURKE, R.; AGUS, D.; MALLICK, P. ProteoWizard: Open source software for rapid proteomics tools development. **Bioinformatics**, v. 24, n. 21, p. 2534–2536, 2008.

KLAUBERG, C.; VIDAL, E.; RODRIGUEZ, L. C. E.; DIAZ-BALTEIRO, L. Determining the optimal harvest cycle for copaiba (*Copaifera spp.*) oleoresin production. **Agricultural Systems**. v. 131, n. 1, p. 116-122, 2014.

KRUBE, A.; REBANE, R.; KIPPER, K.; OLDEKOP, M. L.; EVARD, H.; HERODES, K.; RAVIO, P.; LEITO, I. Tutorial review on validation of liquid chromatography–mass spectrometry methods: Part I. **Analytica Chimica Acta**. v. 870, n. 1, p 1-28, 2015a.

KRUBE, A.; REBANE, R.; KIPPER, K.; OLDEKOP, M. L.; EVARD, H.; HERODES, K.; RAVIO, P.; LEITO, I. Tutorial review on validation of liquid chromatography–mass spectrometry methods: Part II. **Analytica Chimica Acta**. v. 870, n. 1, p 1-28, 2015b.

LAHLAU, M. The success of natural products in drug discovery. **Pharmacology & Pharmacy**. v. 4, n. 3, p. 17-31, 2013.

LAMEIRA, O. A.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; ZOGHBI, M. G. B.; OLIVEIRA, E. C. P. Seasonal variation in the volatiles of *Copaifera duckei* Dwyer growing wild in State of Pará – Brasil. **Journal of Essential Oil Research**. v. 21, n. 1, p. 105-108, 2009.

LEANDRO, L. M.; SOUSA-VARGAS, F.; BARBOSA, P. C. S.; NEVES, J. K. O.; SILVA, J. A.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera spp.*) oleoresins. **Molecules**. v. 17, n. 4, p. 3866-3889, 2012.

LEGAULT, J.; PICHETTE, A. Potentiating effect of beta-caryophyllene on anticancer activity of alpha-humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. **The Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 59, n. 12, p. 1643-1647, 2007.

LEMONS, M.; SANTIN, J. R.; MIZUNO, C. S.; BOEING, T.; SOUSA, J. P. B.; NANAYAKKARA, D.; BASTOS, J. K.; ANDRADE, S. F. *Copaifera langsdorffii*: evaluation of potential gastroprotective of extract and isolated compounds obtained from leaves. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 25, p. 238-245, 2015.

LIMA, M. E.; FORTES-DIAS, C. L.; CARLINI, C. R.; GUIMARÃES, J. A. Toxinology in Brazil: A big challenge for a rich biodiversity. **Toxicon**. v. 56, n. 1. p. 1085-1091, 2010.

LVDP – La Via del Profumo [homepage da internet]. *Copaifera officinalis*. Disponível em: <<http://www.profumo.it/Legno-di-Copahu/3349>>. Acesso em: 30 de junho de 2017.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JR, V. F. V.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**. v. 25, n. 3. p. 429-438, 2002.

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

MAISTRO, E. L.; CARVALHO, J. C. T.; CASCON, VV.; KAPLAN, M. A. C. In vivo evaluation of the mutagenic potential and phytochemical characterization of oleoresin from *Copaifera duckei* Dwyer. **Genetics and Molecular Biology**. v. 28, n. 4, p. 833-838, 2005.

MIRANDA, M. M.; PANIS, C.; SILVA, S. S.; MACRI, J. A.; KAWAKAMI, N. Y.; HAYASHIDA, T. H.; MADEIRA, T. B.; ACQUARO JR. V. R.; NIXDORF, S. L.; PIZZATTI, L.; AMBRÓSIO, S. R.; CECCHINI, R.; ARAKAWA, N. S.; VERRI, JR.; W. A.; COSTA, I. V.; PAVANELLI, W. R. Kaurenoic Acid possesses leishmanicidal activity by triggering a NLRP12/IL-1 β /cNOS/NO pathway. **Mediators of Inflammation**. v. 2015, n. 2015, p. 1-10, 2015.

MOTTA, E. V. S. **Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE-UV-DAD para quantificação e análise sazonal de derivados galoilquínicos nas folhas de *Copaifera langsdorffii***. São Paulo. 2014. 232p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Rieirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

MOTTA, E. V. S.; LEMOS, M.; COSTA, J. C.; BANDERÓ-FILHO, V. C.; SASSE, A.; SHERIDAN, H.; BASTOS, J. K. Galloylquinic acid derivatives from *Copaifera langsdorffii* leaves display gastroprotective activity. **Chemico-Biological Interactions**. v. 261, n. 1, p. 145-155, 2017.

NASCIMENTO, M. E.; ZOGHBI, M. G. B.; PINTO, J. E. B. P.; BERTOLUCCI, S. K. B. Chemical variability of the volatiles of *Copaifera langsdorffii* growing wild in the Southeastern part of Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 43, n. 1, p. 1-6, 2012.

NAZ, S.; VALLEJO, M.; GARCÍA, A.; BARBAS, C. Method validation strategies involved in non-targeted metabolomics. **Journal of chromatography A**. v. 1353, n. 1, p. 99 – 105, 2014.

NETO, J. S. L.; GRAMOSA, N. V.; SILVEIRA, E. D. Constituintes químicos dos frutos de *Copaifera langsdorffii* Desf. **Química Nova**. v. 31, n. 5, p. 1078-1080, 2008.

NOGUEIRA, M. S.; FURTADO, R. A.; BASTOS, J. K. Flavonoids and Methoxy-galloylquinic Acid Derivatives from the Leaf Extract of *Copaifera langsdorffii* Desf. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 63, n. 31, p. 6939-6945, 2015.

OHSAKI, A.; LU, T. Y.; ITO, S.; EDATSUGI, H.; IWATA, D.; KMODA, Y. The isolation and *in vivo* potent antitumor activity of clerodane diterpenoid from the oleoresin of the Brazilian medicinal plant, *Copaifera langsdorffii* Desf. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. v. 4, n. 24, p. 2889-2892, 1994.

OLIVEIRA, L. G. S.; RIBEIRO, D. A.; SARAIVA, M. E.; MACÊDO, D. G.; MACEDO, J. G. F.; PINHEIRO, P. G.; COSTA, J. G. M.; SOUZA, M. M. A.; MENEZES, I. R. A. Chemical variability of essential oils of *Copaifera langsdorffii* Desf. in different phenological phases on a savannah in the Northeast, Ceará, Brazil. **Industrial Crops and Products**. v. 97, n.1, p. 455-464, 2017.

PADUCH, R.; KANDEFER-SZERSZEŃ, M.; TRYTEK, M.; FIEDUREK, J. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis**. v. 55, n. 5, p. 315-327, 2007.

PASCHOAL, J. A. R.; RATH, S.; AIROLDI, F. P. S.; REYES, F. G. R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Química Nova**. v. 31, n. 5, p. 1190-1198, 2008.

PATHURI, R.; MUTHUKUMARAN, M.; KRISHNAMOORTHY, B.; NISHAT, A. A review on analytical method development and validation of pharmaceutical technology. **Current Pharma Research**. v. 3, n. 2, p. 855-870, 2013.

PATIL, R.; DESHMUKH, T.; PATIL, V.; KHANDELWAL, K. Review on analytical method development and validation. **Research and Reviews: Journal of Pharmaceutical Analysis**. v. 3, n. 3, p. 1-10, 2014.

PAIVA, L. A. F.; GURGEL, L. A.; CAMPOS, A. R.; SILVEIRA, E. R.; RAO, V. S. N. Attenuation of ischemia/reperfusion-induced intestinal injury by oleoresin from *Copaifera langsdorffii* in rats. **Life Sciences**. v. 75, n. 16, p. 1979-1987, 2004.

PERIS-VICENTE, J.; ESTEVE-ROMERO, J.; CARDA-BROCH, S. Chapter 13 - Validation of analytical methods based on chromatographic techniques: An overview. In: ANDERSON, J.

L.; BERTHOD, A.; PINO, V.; STALCUP, A. M., editores. **Analytical Separation Science**. 5th Vo. Weinheim: Wiley-VCH; 2015. p. 1757-1808.

PLOWDEN, C. Production ecology of copaíba (*Copaifera sp.*) oleoresin in the eastern Brazilian Amazon. **Economic Botany**. v. 57, n. 4, p. 491-501, 2003.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Química Nova**. v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e farmacobiotechnologia**. São Paulo-SP: Premier editorial. p. 91-122, 1997.

RUIZ-ANGEL, M. J.; GARCÍA-ALVAREZ-COQUEA, M. C.; BERTHOD, A.; CARDABROCH, S. Are analysts doing method validation in liquid chromatography? **Journal of Chromatography A**. v. 1353, n. 1, p. 2-9, 2014.

SACHETTI, C. G.; FASCINELI, M. L.; SAMPAIO, J. A.; LAMEIRA, O. A.; CALDAS, L. D. Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata* Ducke, Fabaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 19, n. 4, p. 937-941, 2009.

SANTOS, A. O.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; VEIGA-JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; NAKAMURA, C. V. Effect of Brazilian copaiba oils on *Leishmania amazonenses*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 120, n. 2, p. 204-208, 2008.

SEEL, C. S. **A fragrant introduction to terpenoid chemistry**. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2003. 410p.

SILVA, N. C. C.; FERNANDES-JUNIOR, A. Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. **The journal of venomous animals and toxins including tropical diseases**. v. 16, n. 3, p. 402-413, 2010.

SILVA, E. S.; MATHIAS, C. S.; LIMA, M. C. F.; VEIGA JUNIOR, V. F.; RODRIGUES, D. P.; CLEMENT, C. R. Análise físico-química do oleorresina e variabilidade genética de copaíba na Floresta Nacional do Tapajós. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. v. 47, n. 11, p. 1621-1628, 2012.

SINGH, R. Medicinal plants: A review. **Journal of Plant Science**. v. 3, n. 1, p. 50-55, 2015.

SKOOG, D. A, WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução da 9ª edição. São Paulo-SP; Thompson; 2014.

SOARES, D. C.; PORTELLA, N. A.; RAMOS, M. F. S.; SIANI, A. C.; SARAIVA, E. M. *Trans-β-Caryophyllene*: An Effective Antileishmanial Compound Found in Commercial

Copaiba Oil (*Copaifera spp.*). **Evidence Based Complementary Alternative Medicine**. v. 2013, n. 1, p. 1-13, 2013.

SOBRINHO, T. J. S. P.; SILVA, C. H. T. P.; NASCIMENTO, J. E.; MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIN, E. L. C. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**. v. 44, n. 4, 2008.

SOUSA, J. P.B.; BRANCALION, A. P. S.; SOUZA, A. B.; TURATTI, I. C. C.; AMBRÓSIO, S. R.; FURTADO, N. A. J. C.; LOPES, N. P.; BASTOS, J. K. 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, 2011.

SOUZA, P. A.; RANGEL, L. P.; OIGMAN, S. S.; ELIAS, M. M.; FERREIRA-PEREIRA, A.; De LUCAS, N. C.; LEITÃO, G. G. Isolation of two bioactive diterpenic acids from *Copaifera glycyarpa* oleoresin by high-speed counter-current chromatography. **Phytochemical Analysis**. v. 21, n. 6, p. 539-543, 2010.

SOUZA, G. H. B.; MELLO, J. C. P.; LOPES, N. P. **Revisões e, processos e técnicas avançadas de isolamento e determinação estrutural de ativos de plantas medicinais**. Ouro Preto-MG: UFOP, 2011.

SOUZA, A. B.; MOREIRA, M. R.; BORGES, C. H.; SIMO, M. R.; BASTOS, J. K.; SOUSA, J. P.; AMBROSIO, S. R.; VENEZIANI, R. C. Development and validation of a rapid RP-HPLC method for analysis of (-)-copalic acid in copaba oleoresin. **Biomedical Chromatography**. v. 27, n. 3, p. 280-283, 2013.

SOUZA DE OLIVEIRA, L. G.; RIBEIRO, D. A.; SARAIVA, M. E, MACÊDO, D. G.; MACEDO, J. G. F.; PINHEIRO, P. G.; COSTA, J. G. M.; SOUZA, M. M. A. MENEZES, I. R. A. Chemical variability of essential oils of *Copaifera langsdorffii* Desf. In different phenological phases on a savannah in the Northeast, Ceará, Brazil. **Industrial Crops and Products**. v. 97, n. 1, p. 455-464, 2017.

TAPPIN, M. R. R.; PEREIRA, J. F. G.; LIMA, L. A.; SIANI, A. C.; MAZZEI, J. L.; RAMOS, M. F. S. Análise química para a padronização do óleo de copaíba por cromatografia em fase gasosa de alta resolução. **Química Nova**, v. 27, n. 2, p. 236-240, 2004.

TENG, J.; ZHANG, R.; ZHANG, Y. W.; DUAN, H. Q.; TAKAISHI, T. A new labdanic norditerpene from *Pinus sylvestris*. **Natural Product Research**. v. 24, n. 17, p. 1587-1592, 2010.

THOLL, D. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**. v. 148, n. 1, p. 63-106, 2015.

TRINDADE, F. T. T.; STABELI, R. G.; PEREIRA, A. A.; FACUNDO, V. A.; SILVA, A. A. *Copaifera multijuga* ethanolic extracts, oil-resin, and its derivatives display larvicidal activity

against *Anopheles darlingi* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 23, n. 2, p. 464-470, 2013.

TURKEZ, H.; TOGAR, B.; TATAR, A.; GEYIKOGLU, F.; HACIMUFTUOGLU, A. Cytotoxic and cytogenetic effects of α -copaene on rat neuron and N2a neuroblastoma cell lines. **Biologia**. v. 69, n. 7, p. 936-942, 2014.

VAN DEN BERG, R. A.; HOEFSLOOT, H. C. J.; WESTERHUIS, J. A.; SMILDE, A. K.; VAN DER WERF, M. J. Centering, scaling, and transformations: improving the biological information content of metabolomics data. **BMC Genomics**. v. 7, n. 142, p. 1-15, 2006.

VARGAS, F. S.; ALMEIDA, P. D. O.; ARANHA, E. S. P.; BOLETI, A. P. A.; NEWTON, P.; VASCONCELLOS, M. C.; VEIGA-JUNIOR, V. F.; LIMA, E. S. biological activities and cytotoxicity of diterpenes from *copaifera* spp. Oleoresins. **Molecules**. v. 20, n. 4, p. 6194-6210, 2015.

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

VEIGA-JUNIOR, V.F.; ROSAS, E.C.; CARVALHO, M.V.; HENRIQUES, M.G.M.O.; 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. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, p. 248 - 254, 2007.

VEIGA-JUNIOR, V. F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. v. 18, p. 467-471, 2008.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva: WHO, 2013.

XEI, T.; SONG, S.; LI, S.; OUYANG, S.; XIA, L.; HUANG, J. Review of natural product databases. **Cell Proliferation**. v. 48, n. 4, p. 398-404, 2015.

XIN, Z. LU, Y.; XING, X.; LONG, J.; LI, J.; XUE, X. Synthesis of (–)-agathic acid and (–)-copalic acid from andrographolide via a regioselective Barton-McCombie reaction. **Tetrahedron**. v. 72, n. 4, p. 555-562, 2016.

ZIMMERMAM-FRANCO, D. C.; BOLUTARI, E. B.; POLONINI, H. C.; CARMO, A. M. R.; CHAVES, M. G. A. M.; RAPOSO, N. R. B. Antifungal Activity of *Copaifera langsdorffii* Desf oleoresin against dermatophytes. **Molecules**. v. 18, n. 10, p. 12561-12570, 2013.

ZOGHBI, M. G. B.; MARTINS-DA-SILVA, R. C. V.; TRIGO, J. C. Volatiles of oleoresins of *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, *C. piresii* Dwyer and *C. pubiflora* Benth. (Leguminosae). **Journal of Essential Oil Research**. v. 21, n. 5, p. 403-404, 2009.