



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE SAÚDE COLETIVA
BACHARELADO EM FARMÁCIA**

**LAUREN YASMIN DUARTE DA SILVA
ZONILCE BRITO VIEIRA**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ÓLEORRESINA DA ESPÉCIE *Copaifera*
*reticulata***

**SANTARÉM – PA
2023**

**LAUREN YASMIN DUARTE DA SILVA
ZONILCE BRITO VIEIRA**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DO ÓLEORRESINA DA ESPÉCIE *Copaifera
reticulata***

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao curso de Bacharelado em Farmácia, para a obtenção de grau de Bacharel em Farmácia da Universidade Federal Oeste do Pará, Instituto de Saúde Coletiva (ISCO).

Orientador (a): Profa. Dra. Tânia Mara Pires Moraes

**SANTARÉM-PA
2023**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema Integrado Bibliotecas – SIBI/UFOPA

B586a Silva, Lauren Yasmin Duarte da
Avaliação da toxicidade do óleo-resina da espécie *Copaifera reticulata* / Lauren Yasmin Duarte da Silva e Zonilce Brito Vieira – Santarém, 2023.
67 f.: il.

Orientadora: Tânia Mara Pires Moraes
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Saúde Coletiva, Bacharelado em Farmácia.

1. *Copaifera reticulata*. 2. Ensaio de Segurança. 3. Toxicidade. I. Moraes, Tânia Mara Pires, *orient.* II. Título.

CDD: 23 ed. 615.327

Bibliotecário-Documentalista: Ronne Clayton de Castro Gonçalves – CRB-2/1410

AGRADECIMENTOS – LAUREN YASMIN

Meu agradecimento principal vai para DEUS, pelo dom da vida, por me fortalecer nos momentos mais difíceis, por me ajudar a vencer cada obstáculo, por colocar pessoas incríveis na minha vida e por estar comigo durante a realização desse trabalho. Sem Ti eu não sou nada.

Ao meu filho, Tiago Duarte, que foi meu grande incentivo a continuar e concluir a graduação, me acompanhou nas idas e vindas da universidade, foi meu pequeno grande companheiro.

Agradeço com carinho ao meu esposo, Wilson Silveira, com quem compartilho a vida, os sonhos, as dívidas e o desejo de uma vida melhor ao nosso filho. Compreendeu minha ausência, minhas noites em claro, meus estresses enquanto me dedicava a vida acadêmica. E não saiu do meu lado quando precisei.

Agradeço a minha mãe Maria da Saúde, meu irmão Fábio Duarte e irmã Thamiris Duarte por todo apoio e ajuda no decorrer da graduação.

A todos que participaram, direta ou indiretamente, no decorrer da graduação e desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

Aos meus colegas de curso e professores, pelo companheirismo e pela troca de experiências que me permitiram crescer não só como pessoa, mas também como formando. As meninas da coordenação Acadêmica Taciana e Lorena por toda ajuda.

A minha parceira de pesquisa Zonilce Brito, por entrar comigo nessa, pelos bons momentos de alegria e aqueles nem tão alegres, por todo incentivo quando eu ponderava desistir, por toda ajuda durante nossa trajetória na universidade. Você merece o mundo!

A professora Tânia Moraes pela orientação no decorrer do trabalho.

Ao José Junior, pela confiança, apoio e conversas sobre os desafios do profissional farmacêutico, pela coorientação e auxílio com os resultados da pesquisa.

Ao Prof.^o Tiago Silveira, a Poliana Leão e a todos os colaboradores do Biotério da UEPA, pelo apoio e experiências durante a realização dos experimentos.

A Universidade Federal do Oeste do Pará, importante no meu processo de formação profissional, e por tudo que aprendi ao longo dos anos do curso.

AGRADECIMENTOS – ZONILCE BRITO

À Deus em primeiro lugar, por sempre me fortalecer e acalmar nos momentos difíceis.

À minha família, em especial, a minha mãe, por sempre me colocar em suas orações.

Ao Alexandre, por estar ao meu lado nos momentos alegres e tristes, e sobretudo, pela sua positividade em meio ao caos, me mostrando sempre o lado bom de todas as situações. Pelo incentivo, compreensão, parceria.

Aos colegas e amigos, Adailton, Erilene, karol, Katrine, que sempre estiveram ao meu lado.

À Lauren Yasmin, pela companhia durante a longa construção do TCC, pela força nos momentos de tristeza, parceria em disciplinas. Obrigada por tudo!

À Cristina dos Santos, pela parceria de vida e estudos. Você foi fundamental para a minha chegada até aqui!

Ao José Junior, e a todos os colaboradores do Biotério e a UEPA, pela oportunidade de vivenciar a experiência da realização de uma pesquisa de tal proporção.

A todos os colaboradores do CRAS São José Operário, em especial Vanderleia Ferreira, Jéssica e Moema, por serem coordenadoras compreensíveis e me apoiarem na caminhada acadêmica. À Mara, Poliana e Fabrycia, por sempre acreditarem em mim.

A todos as pessoas que conheci em congressos e cursos em outros estados, por todo o incentivo e troca de conhecimentos.

Ao laboratório de farmacologia pelo suporte e oportunidade para a realização da pesquisa.

À professora Tânia Moraes, pelas orientações concedidas para a construção do TCC.

A Universidade Federal do Oeste do Pará, pelas oportunidades e apoios financeiros no decorrer da minha caminhada acadêmica.

A professora Elane Pacheco, do laboratório de biotecnologia e plantas medicinais da UFOPA, por conceder o produto natural (Copaíba) para a pesquisa.

RESUMO

As plantas produzem uma ampla gama de substâncias químicas que podem desencadear uma variedade de atividades biológicas diversificadas, e no que lhe concerne, representam um importante recurso terapêutico para grande parte da população, sobretudo, aquelas que não têm acesso direto a medicamentos. Para tanto, o uso de plantas medicinais de maneira incorreta pode desencadear uma resposta negativa à saúde das pessoas. A relação entre a intensidade da exposição, concentração e duração da exposição tende a influenciar diretamente no nível de intoxicação, por isso, é indispensável que se conheça o nível de toxicidade das plantas medicinais e dos produtos naturais em geral. Trata-se de um estudo com a finalidade de realizar ensaios pré-clínicos *in vivo* de segurança, para avaliar a toxicidade oral aguda, dérmica aguda e toxicidade dérmica em doses repetidas de óleo-resina da *Copaifera reticulata* em ratos *Wistar*. O material vegetal, o óleo-resina da *Copaifera reticulata*, foi obtido na Floresta Nacional do Tapajós - FLONA, no município de Belterra, na Região Oeste do Pará. Para a identificação de compostos químicos, realizou-se análises cromatográficas com detector de massas (CG-EM), equipado com auto-amostrador (TriPlus RSH) e coluna capilar apolar (Tr-5; 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm). Os estudos de toxicidade foram realizados em conformidade com os protocolos OCDE-423/2001 (oral aguda - dose única de 2000 mg/kg de massa do animal), OECD - 402/2017 (dérmica aguda - dose de 2000 mg/kg de massa do animal,) e OECD - 410/1981 (dérmica em doses repetidas - doses de 1000mg, 250mg, 62,5mg mg/kg de massa do animal), realizados no Biotério da Universidade do Estado do Pará, campus Santarém. Quanto a caracterização química dos compostos identificados na Copaíba (*Copaifera reticulata*), 68,26% correspondem a sesquiterpenos e 24,89% a diterpenos. Para os estudos de toxicidade oral e dérmica aguda não foram observadas alterações significativas em sinais clínicos e demais sistemas. Apenas alguns animais tratados com a Copaíba na dosagem de 1.000 mg/kg, na toxicidade dérmica em doses repetidas exibiram alterações como ampliação da sensibilidade dérmica, agitação, inquietude, pilo ereção e alguns casos de diarreia. Nesta mesma toxicidade e dosagem, nos parâmetros hematológicos, constatou-se alterações no número de leucócitos, apenas em animais do sexo masculino, porém tais alterações apresentam-se insignificantes estatisticamente. Através dos resultados alcançados e em meio às condições experimentais empregadas e a análise destes correlacionada com a literatura científica, foi possível concluir que o óleo-resina de *Copaifera reticulata* apresenta margem relativa de segurança para o uso sugestivo como agente terapêutico, considerando que o experimento com o óleo-resina, não causou sinais clínicos toxicológicos, não havendo ocorrência de registro de óbito, somado a não existência de alterações significativas nos parâmetros avaliados nos animais utilizados na pesquisa. Para tanto, faz-se necessário o desenvolvimento de novos estudos com espécies diferentes de óleo-resina de *Copaifera*.

Palavras – Chave: *Copaifera reticulata*. Ensaios de Segurança. Toxicidade.

ABSTRACT

Plants produce a wide range of chemical substances that can trigger a variety of diverse biological activities, and as far as they are concerned, represent an important therapeutic resource for a large part of the population, especially those who do not have direct access to medicines. Therefore, the incorrect use of medicinal plants can trigger a negative response to people's health. The relationship between the intensity of exposure, concentration and duration of exposure tends to directly influence the level of intoxication, therefore, it is essential to know the level of toxicity of medicinal plants and natural products in general. This is a study with the aim of carrying out pre-clinical in vivo safety tests to evaluate acute oral, acute dermal and dermal toxicity in repeated doses of *Copaifera reticulata* oil resin in Wistar rats. The plant material, *Copaifera reticulata* oil resin, was obtained from the Tapajós National Forest - FLONA, in the municipality of Belterra, in the Western Region of Pará. For the identification of chemical compounds, chromatographic analyzes were carried out with a mass detector (GC-MS), equipped with an autosampler (TriPlus RSH) and apolar capillary column (Tr-5; 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 µm). Toxicity studies were carried out in accordance with protocols OECD-423/2001 (acute oral - single dose of 2000 mg/kg of animal body weight), OECD - 402/2017 (acute dermal dose - 2000 mg/kg body weight of the animal,) and OECD – 410/1981 (dermal in repeated doses - doses of 1000mg, 250mg, 62.5mg mg/kg of animal mass), carried out at the vivarium of the University of the State of Pará, campus Santarém. As for the chemical characterization of the compounds identified in Copaíba (*Copaifera reticulata*), 68.26% correspond to sesquiterpenes and 24.89% to diterpenes. For oral and acute dermal toxicity studies, no significant changes were observed in clinical signs and other systems. Only some animals treated with Copaiba at a dosage of 1,000 mg/kg, in dermal toxicity in repeated doses, showed changes such as increased dermal sensitivity, agitation, restlessness, pilo erection and some cases of diarrhea. In this same toxicity and dosage, in the hematological parameters, alterations in the number of leukocytes were observed, only in male animals, however such alterations are statistically insignificant. Through the results achieved and in the midst of the experimental conditions employed and their analysis correlated with the scientific literature, it was possible to conclude that the oil resin from *Copaifera reticulata* presents a relative margin of safety for the suggestive use as a therapeutic agent, considering that the experiment with the oil resin, did not cause toxicological clinical signs, with no death records, in addition to the non-existence of significant changes in the parameters evaluated in the animals used in the research. Therefore, it is necessary to develop new studies with different species of *Copaifera* oil resin.

Keywords: *Copaifera reticulata*. Safety Tests. Toxicity.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1 Produtos naturais	11
2.1.1 Históricos.....	11
2.1.2 Dados Estatísticos.....	13
2.2 As Plantas Medicinais	14
2.2.1 Políticas e Legislação Referentes à Plantas Medicinais	15
2.3 Atuação do Farmacêutico	18
2.4 Perspectivas futuras, novas drogas, descobertas	19
2.5 Toxicidade das Plantas Medicinais	19
2.6 Copaíba	22
2.6.1 Histórico	22
2.6.2 Botânica	24
2.6.3 Características Físico-químicas	26
2.6.4 Ações Farmacológicas	27
2.7 Ensaios de Toxicidade	29
2.7.1 Toxicidade Oral Aguda.....	30
2.7.2 Toxicidade Dérmica Aguda	31
2.7.3 Toxicidade Dérmica em Doses Repetidas.....	32
3. OBJETIVOS	33
3.1 Objetivo Geral	33
3.2 Objetivos Específicos	33
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 Material vegetal	34
4.2 Obtenção do material vegetal	34
4.3 Perfil cromatográfico/ fitoquímico da oleorresina	34
4.4 Aspectos Éticos	35
4.5 Animais	35
4.6 Ensaios de Toxicidade	35

4.6.1 Toxicidade Oral Aguda.....	35
4.6.2 Toxicidade Dérmica Aguda	37
4.6.3 Toxicidade Dérmica em Doses Repetidas.....	39
5 RESULTADOS.....	42
5.1 Extração de produtos naturais.....	42
5.2 Caracterização Química.....	42
5.3 Ensaio de Segurança	44
5.3.1 Toxicidade Oral Aguda.....	44
5.3.2 Toxicidade dérmica aguda	45
5.3.3 Toxicidade dérmica em doses repetidas	47
5.3.3.1 Peso dos animais	47
5.3.3.2 Consumo de ração	48
5.3.3.3 Análise macroscópica dos órgãos.....	48
5.3.3.4 Parâmetros bioquímicos.....	49
5.3.3.5 Parâmetros hematológicos.....	50
6 DISCUSSÃO	53
7 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS.....	58
ANEXOS	67

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas com finalidades medicinais, objetivando tratamento, cura e prevenção de doenças, é caracterizado como um dos meios mais antigos de prática medicinal da humanidade. A gênese da utilização de plantas, certamente, nasceu, à medida que homem primitivo tentava suprir suas necessidades básicas, por meio das casualidades, observações e tentativas, considerando a dependência essencialmente da natureza para a sua sobrevivência (PEREIRA,2013).

A utilização milenar de plantas medicinais tem mostrado, no decorrer dos anos, que estes elementos naturais podem apresentar grandes propriedades farmacológicas, que requerem investigação através de pesquisas e estudos específicos. Sabendo disso, e por haver costumes tradicionais voltados a utilização de plantas medicinais no Brasil, estudiosos brasileiros começaram a valorizar e a explorar pesquisas voltadas para propriedades curativas de plantas, ganhando assim interesse também por parte da indústria farmacêutica, com objetivo na elaboração de novos fármacos (CALIXTO, SIQUEIRA Jr., 2008). E uma das plantas mais usadas e com potencial terapêutico destaca-se a Copaíba (*Copaifera Reticulata*) presente na RENISUS (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde) (LIMA, 2015).

A diversidade cultural do Brasil, sobretudo, em comunidades tradicionais, tem contribuído para continuidade e fortalecimento dos conhecimentos empíricos relacionados aos produtos naturais. Tendo em vista, o conhecimento básico do entendimento de que determinadas substâncias são responsáveis por atividade farmacológica e podem produzir uma resposta terapêutica, os produtos naturais, mais especificamente as plantas medicinais, foram inseridos em programas e políticas governamentais, com a finalidade de incentivar seu uso racional e, ainda, possibilitando a inserção de mais uma prática alternativa de tratamento.

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, publicada em 2006, aprovada por meio do Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, tem como objetivo geral “*Garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional*”. Outrossim, esta política é um importante marco na valorização dos conhecimentos empíricos, incidindo principalmente na perspectiva de desenvolvimento de fitomedicamentos, a

medida que o próprio governo reconhece o potencial terapêutico que as plantas medicinais podem conter. Além disso, ao respeitar o conhecimento tradicional e garantir o acesso aos serviços relacionados às plantas medicinais, fitoterápicos e fitoterapia com segurança, eficácia e qualidade na perspectiva holística da assistência à saúde, amplia as possibilidades terapêuticas dos praticantes (BRASIL, 2006).

No ano de 2016, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), publicou a primeira edição do Memento fitoterápico da Farmacopeia Brasileira, que dispõem de um conjunto de plantas medicinais e seus respectivos dados farmacológicos, toxicológicos, contraindicações, formas farmacêuticas e o modo como estas devem ser manipuladas (BRASIL, 2017). Embora, o documento citado contenha uma diversidade de plantas medicinais, ainda há inúmeras outras que necessitam de estudos mais aprofundados, tanto para identificar suas propriedades farmacológicas, como evidenciar seu nível de toxicidade.

Com o progresso das tecnologias, e de inovações de como se faz isolamento de elementos dos vegetais, é possível realizar identificação de componentes com mais agilidade em amostras como as de extratos vegetais, surgindo assim um momento contemporâneo na indústria farmacêutica, tendo em conta o estudo autenticado de sua eficiência (GADELHA *et al.*, 2013).

Justificando-se na investigação do uso seguro da Copaíba como forma terapêutica, o presente trabalho visa realizar ensaios pré-clínicos *in vivo* de segurança do óleoresina de *Copaifera reticulata* para avaliar o potencial toxicológico da espécie, por testes de toxidade oral aguda, dérmica aguda e em doses repetidas, usando ratos *Wistar*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Produtos naturais

Os produtos naturais ou metabólitos secundários são conjuntos químicos referentes a um único tipo de organismo, ou a um pequeno grupo de organismos geneticamente relacionados. Podendo assim servir como fonte de nutrição, essência, tintura, pesticidas e para finalidades curativas (ROCHA *et al.* 2020).

Esses produtos vêm sendo empregados desde os povos antigos, visto que, o homem desenvolveu domínio sob as características terapêuticas de alguns vegetais, mediante a sua convivência e investigação, quando os animais doentes recorriam às plantas. Esse conhecimento se tornou relevante para que as informações sobre o uso de produtos naturais fossem repassadas hereditariamente (PEREIRA, DEFANI, 2013).

Abreu (2021), verificou que diversos elementos socioculturais são capazes de estimular o uso de produtos naturais, como a idade, crença e o nível de formação escolar. E o uso de produtos naturais mais praticáveis foi o consumo de chás e sucos, tidos como seguro para o uso segundo seus consumidores.

2.1.1 Históricos

A natureza por diversas vezes foi a opção terapêutica para várias doenças que civilizações antigas sofriam. A responsabilidade de curar os doentes pertencia aos curandeiros que eram consagrados mediadores entre os homens e os deuses, interligando, dessa maneira, feitiçaria e religião ao conhecimento vivenciado das condutas de saúde. Essa terapia era realizada por meio de produtos naturais e outros hábitos que foram sendo excluídos por não apresentarem fundamento científico (ALVIM, 2006).

Duarte (2006), discorreu em seu trabalho que desde 4.000 a.C., já se encontravam diversas anotações históricas a respeito do uso de vegetais para o cuidado de enfermidades. A data do primeiro registro médico guardado no Museu da Pensilvânia é de 2.100 a.C. e agrega um acervo de fórmulas de trintas variadas, drogas vegetais, animal ou mineral.

O manuscrito Egípcio “Ebers Papyrus” é a principal obra chinesa sobre o uso de produtos naturais sendo produzido em 500 a.C. Esta obra descreve 811 prescrições e 700 drogas, com doses e recomendações da aplicação de plantas, como, por exemplo, Ginseng (*Panax spp*), *Ephedra spp*, *Cassia spp* e *Rheum palmatum* L. O papírio de Ebers, como é conhecido, serve até as datas atuais como base para pesquisa e a produção industrial de empresas Farmacêuticas (DUARTE, 2006).

Quando se trata de registros da história natural, diversos filósofos ganharam destaques como Hipócrates, que segundo Silva (2021), a obra nomeada *Corpus Hippocraticum* (440 a. C), Hipócrates diz que a doença pode sim ter cura e não se trata de uma punição divina, sendo assim adquiridas de forma natural. As plantas por sua vez entrariam como tratamento para cada diagnóstico. Ele que foi conceituado como o Pai da Medicina moderna. Para Pinto et al., (2002), foi conhecido por tratar a natureza como o caminho para seleção de instrumentos medicamentosos (*Natura medicatrix*). Outro filósofo a citar foi aprendiz de Aristóteles, por nome Teofrasto (372 a.C.), que grafou diversos livros a respeito das plantas, é seu o título do uso da espécie botânica *Papaver somniferum*, vegetal cujo componente farmacologicamente ativo é a morfina (registros sumerianos de 5000 a.C. apresentam a papoula (*P. somniferum*) e tábulas assírias mencionam suas propriedades) (PINTO et al., 2002).

Outro momento importante da história foi quando a partir do vegetal *Salix alba* foi revelada a salicina (analgésico e antitérmico) por Rafaele Piria em 1829, tido como um marco nos acontecimentos da indústria farmacêutica. E em 1839 surgiu o ácido salicílico, que a parti desse componente, em 1897 Félix Hoffman sintetizou a aspirina (ácido acetil salicílico), se tornando o primeiro registro que se tem ciência na área de medicamentos (CALIXTO & SIQUEIRA JÚNIOR, 2008).

Já em território brasileiro as plantas medicinais nativas, retratadas pelos historiadores, engradeceram as farmacopeias europeias. Extensas expedições e cientistas de outros países deslocaram-se para reunir espécimes dos três domínios da natureza, o que marcou o século XIX, enriquecendo assim os acervos dos museus europeus. O pau-brasil (*Caesalpinia echinata*) foi o primeiro produto estudado no Laboratório dos Condes, que os portugueses planejavam negociar com a China (ALMEIDA et al. 2011). No Brasil o que se entendia por química de produtos

naturais era realizada nas boticas no Rio de Janeiro, não havendo diferença entre química e farmácia. Ainda no século XIX, Ezequiel Corrêa dos Santos (1801 – 1864), foi conceituado por alguns como o mais admirável farmacêutico brasileiro, sendo outro boticário que se doava em sua farmácia a pesquisa dos componentes químicos das plantas (ALMEIDA et al. 2011).

2.1.2 Dados Estatísticos

Na pesquisa de Veiga Junior (2008), realizada com pequena proporção de moradores da área urbana de Nova Friburgo, perguntou-se sobre o uso de plantas medicinais, 97% dos entrevistados confirmaram usar rotineiramente para tratamento de suas enfermidades, 2,3% não usavam em seu cotidiano. No período de sua pesquisa, 67,9% já se manifestaram estar usando algum tipo de planta. Para 63,0% usavam quando se encontravam com algum problema de saúde, somente 12,6% deles davam pouca importância, e utilizavam apenas em ocasiões mais leves, como um resfriado ou inflamações simples e 1,4% dos entrevistados usavam em casos mais graves. Entre as plantas mais frequentemente utilizadas, foram citados o boldo brasileiro (*Plectanthis barbatus*) e a camomila (*Chamomila recutita*), em 14,7% e 7,0% dos formulários, respectivamente.

Já Brasileiro e colaboradores (2008), trouxeram em seus resultados, a aplicação de 2.454 questionários aplicados sobre o uso das plantas medicinais, onde 36,47% (895 pessoas) serviam-se frequentemente desses vegetais, 55,47% (1361 pessoas) usavam eventual e somente 8,06% (198 pessoas) não utilizavam. Os mais velhos eram os que mais usavam as plantas medicinais.

Segundo informações da agência de notícias IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA), “Em 2019, 4,6% da população utilizou alguma prática integrativa e complementar. Em 2013, o percentual foi de 3,8%. Essas práticas consistem em tratamentos como acupuntura, homeopatia, uso de plantas medicinais e fitoterapia, dentre outros. Elas foram identificadas em proporções maiores nas Regiões Norte (5,7%) e Sul (5,4%). Plantas medicinais e fitoterapia (58,0%) foi a prática mais utilizada, seguida por acupuntura (24,6%) e homeopatia (19,0%)”.

Dentre os entrevistados de Rodrigues et al. (2020), 96% usam plantas medicinais, sendo que 57,14% plantam nos seus quintais. Muitas pessoas

entrevistadas faziam suas hortas particulares para situações como cólicas, gripes, dores, inflamação de garganta, problemas femininos. Creem e desfrutam do que se planta para alívio ou cura de suas enfermidades.

Algumas plantas descritas em seu estudo, estão a Erva cidreira (*Melissa officinalis*) com indicação Antiespasmódico, calmante, digestivo, parte usada: folhas no preparo de Chá, Infusão; a Copaíba (*Copaifera langsdorffii*) para tratar Sinusite, câncer, doenças venéreas, úlceras, feridas, utilizavam o Caule (centro da madeira), seiva, na forma de Óleo, vinho, xarope, maceração, pomada; Sabugueiro (*Sambucus nigra*) usado nos cuidados de febre, tosse, utilizando as folhas na forma de Chá, entre outras (RODRIGUES et al. 2020).

2.2 As Plantas Medicinais

Fitoterápicos, se tornaram de grande relevância, quando se diz respeito de medicamentos derivados de plantas (CALIXTO & SIQUEIRA Jr, 2008). Sendo importante distinguir entre vegetais com ação farmacológica e aquele produto proveniente de alguma parte de uma planta medicinal. Uma vez que, plantas medicinais são tipicamente usadas como remédios por moradores de um território, habitualmente em formas de chás. Já o fitoterápico, é alcançado após o processamento de uma parte de um vegetal, podendo ser aplicada em farmácias de manipulação permitida pela ANVISA (BRASIL, 2020).

Segundo Monteiro (2011), as drogas vegetais são os insumos principais de medicamentos e outros produtos na Fitoterapia, dos quais pode-se citar algumas definições usados nessa área, por exemplo: (Decreto-Lei n.º 176/2006, de 30 de agosto) estão as Substâncias derivadas de plantas; preparações à base de plantas; medicamentos à base de plantas; medicamentos tradicionais à base de plantas, como também os suplementos alimentares (Decreto-lei n.º 136/2003 de 28 de junho), produtos cuja constituição engloba, muitas vezes, plantas, porém, não compreendidos pelo Estatuto do Medicamento. Para desenvolver novos medicamentos, compostos que foram isolados de plantas são usados de protótipo para a indústria farmacêutica.

Vegetais que contêm partes com ação farmacológica são tipos de plantas (tanto cultivadas como não cultivadas) utilizadas para fins terapêuticos. As plantas usadas a partir de sua retirada, são chamadas de plantas frescas, enquanto as

plantas secas e estabilizadas são chamadas plantas secas, sendo equiparadas a fitofármacos. Os medicamentos fitoterápicos se caracterizam pelo conhecimento da eficácia e dos riscos na utilização, bem como pela reprodutibilidade e consistência da qualidade. A sua eficácia e segurança devem ser confirmadas por estudos etnofarmacológicos e de utilização, documentação científica técnica ou dados clínicos. Os agentes fitoterápicos não devem ser considerados contendo substâncias ativas isoladas de qualquer origem ou em associação com extratos de ervas. Já o produto fitoterápico é aquele que tem sua segurança baseada na utilização tradicional, caracterizada pela reprodutibilidade e consistência na qualidade, obtida exclusivamente através da utilização de produtos naturais herbáceas ativas (BRASIL,2014).

2.2.1 Políticas e Legislação Referentes à Plantas Medicinais

No Brasil a elaboração da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), começou no ano de 2003, confirmada em fevereiro de 2006 pela Organização Mundial de Saúde (OMS). (FISCHBORN *et al.*, 2016). A proposta de serviços e produtos da homeopatia, da medicina tradicional chinesa/acupuntura, de plantas medicinais e fitoterapia, além da medicina antroposófica e termalismo social/crenoterapia foram consideradas através da PNPIC, instituída por meio da Portaria GM/MS nº 971, de 3 de maio de 2006. Essa portaria descreve que a fitoterapia é uma “terapêutica caracterizada pelo uso de plantas medicinais em suas diferentes formas farmacêuticas, sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal”. Quando se trata do passado da medicina, a utilização de ervas medicinais como método de curar é um processo de tratamento bastante antigo. Baseada na abundância de conhecimento de geração para geração, e mesmo com o passar do tempo, produtos de origem vegetal estabeleceram suportes para a terapêutica de diversas doenças (BRASIL, 2006).

Solicitar a integração de práticas aos sistemas oficiais de saúde; praticar legislação/normatização para oferta de serviços e produtos de qualidade; possibilitar o desenvolvimento dos conhecimentos na área; treinar os profissionais envolvidos com práticas complementares são alguns objetivos importantes da OMS e das

Conferências Mundiais relacionados a medicina tradicional e complementar. A PNPIC vem responder aos anseios da população, trazendo assim desenvolvimento para a saúde no país, através da normatização e institucionalização das vivências com essas condutas na rede pública e como geradora de políticas, programas e legislação nas três jurisdições de governo (BRASIL, 2018).

Com intuito de diminuir gastos com medicamentos, a OMS em 1991 fortaleceu a significativa contribuição a medicina tradicional no serviço da assistência social, principalmente, a indivíduos com dificuldade ao contato com os sistemas de saúde, pediu aos estados-membros que estimulassem a cooperação entre principiantes da medicina tradicional e da assistência sanitária atual, sugeriu também, pelo aproveitamento absoluto de remédios e que, os produtos naturais, em especial os derivados de plantas, são capazes de levar ao descobrimento de novas substâncias terapêuticas (BRASIL, 2006).

“Garantir e promover a segurança, a eficácia e a qualidade no acesso a plantas medicinais e fitoterápicos, promover e reconhecer as práticas populares de uso de plantas medicinais e remédios caseiros e promover a adoção de boas práticas de cultivo e manipulação de plantas medicinais e de manipulação e produção de fitoterápicos, a partir de uma legislação específica” (BRASIL, 2006, p. 1).

São algumas das diretrizes presentes no Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006, sobre a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Nesse decreto é estimado que os medicamentos adquiridos a partir das espécies vegetais que integram a “Lista de Medicamentos Fitoterápicos de Registro Simplificado”, no contexto ali estipulado, não são obrigados autenticar suas indicações terapêuticas e segurança de uso. A RDC nº 26/2014 define que os fitoterápicos são “produto obtido de matéria-prima ativa vegetal, exceto substâncias isoladas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa, incluindo medicamento fitoterápico e produto tradicional fitoterápico, podendo ser simples, quando o ativo é proveniente de uma única espécie vegetal medicinal, ou composto, quando o ativo é proveniente de mais de uma espécie vegetal”.

Uma tática relevante com intuito de melhorar a saúde das pessoas e à inclusão social, é o desenvolvimento de alternativas terapêuticas transferidas aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), tendo confiança a aproximação às plantas medicinais, fitoterápicos e serviços voltados a fitoterapia, com segurança,

eficácia e qualidade, na perspectiva da integralidade da atenção à saúde (BRASIL,2006).

Nas primeiras edições da Farmacopeia Brasileira podem ser vistas variadas espécies medicinais. E se tratando de Brasil, no que diz respeito de prática de fitoterapia, o Ministério da Saúde autenticou por meio da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e fez levantamento de prioridades para estabelecimento da fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS), estabelecendo a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), que elenca as plantas de uso popular que são permitidas, seguramente, a serem usadas, principalmente, no âmbito da atenção básica, NETO (2020 apud Santos et al., 2016).

Fernandes (2004), discorre que a legislação instituída na década de 1970 (Lei nº 5.991, de 17/12/1973; Lei nº 6.360, de 23/09/1976; Decreto nº 79.094, de 05/01/1977), que se resigna sobre a vigilância sanitária a que estariam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos, entre outros produtos, não constavam os produtos provenientes de plantas. Que o procedimento de regimento das patentes na área químico-farmacêutica se estabeleceu em 1988, pois, a indústria farmacêutica norte-americana havia solicitado, requerendo a concessão da Lei sobre intimidação de imposição de sanções comerciais aos produtos que saem do Brasil para os Estados Unidos. A legislação que fez com que as descobertas químico-farmacêuticas no Brasil se tornassem comprováveis, foi regularizada em 1996 (Lei de Patentes 9.279/96. Regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial, revogando a Lei nº 5.772, de 21/12/1971.) e executada em abril de 1997.

Ainda se tratando de legislações e portarias, Gonçalves (2020), em sua pesquisa intitulada “Os MARCOS LEGAIS DAS POLÍTICAS PÚBLICAS DE PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS NO BRASIL”, lista informações legais relacionados às plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil, como, por exemplo, a Portaria nº 31, de 06 de abril de 1994, da Secretaria de Vigilância Sanitária (SVS) — designou o Grupo de Estudos de Produtos Fitoterápico; a Portaria nº 06, de 31 de janeiro de 1995, da SVS — Estabeleceu e normatizou o registro de produtos fitoterápicos junto do Sistema de Vigilância Sanitária; Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 17, de 24 de fevereiro de 2000, da Anvisa — Acatou o Regulamento Técnico, pretendendo normatizar o registro de medicamentos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária; Resolução do Conselho

Federal de Farmácia (CFF) nº 477, de 28 de maio de 2008 — Estabelece sobre as atribuições do farmacêutico no âmbito das plantas medicinais e fitoterápicos, entre outros marcos na história das plantas medicinais.

2.3 Atuação do Farmacêutico

A Resolução nº 477 de 28 de maio de 2008 — Dispõe sobre as atribuições do farmacêutico no âmbito das plantas medicinais e fitoterápicos e dá outras providências. No Capítulo I do seu anexo — o Art. 2º — ressalta que “Caberão, ainda, ao farmacêutico, no âmbito das plantas medicinais e fitoterápicos, as atividades a seguir relacionadas:

- a) Colaborar no processo de implantação dos serviços de fitoterapia; b) viabilizar o uso racional das plantas medicinais e fitoterápicos(a); c) monitorar, registrar e avaliar os resultados obtidos a partir do acompanhamento do uso das plantas medicinais e fitoterápicos, por meio do estabelecimento de indicadores estabelecidos para tais finalidades (BRASIL,2008.p19)

Já no Capítulo III em seu Art. 7º — apresenta algumas responsabilidades do farmacêutico: a) elaborar especificações técnicas sobre insumos vegetais para os procedimentos de aquisição e recebimento, em face das diferentes formas de apresentação; b) participar do processo de qualificação dos fornecedores, inclusive os de plantas medicinais, droga vegetal e seus derivados; c) selecionar novos produtos utilizados na terapêutica, oriundos de plantas medicinais, priorizando aqueles que melhor atendam o quadro nosológico prevalente em sua região; d) garantir a disponibilidade de plantas medicinais e fitoterápicos conforme os compêndios oficiais, farmacopeias reconhecidas, formulários nacionais e artigos científicos indexados; e) manter local apropriado para conservação de plantas medicinais e fitoterápicos, em atendimento às condições adequadas de armazenamento; f) garantir que a rotulagem e embalagem do fitoterápico esteja conforme a legislação vigente; g) orientar os demais profissionais de saúde, particularmente os prescritores, sobre a correta utilização das plantas medicinais e fitoterápicos. Como também acatar as Boas Práticas de Manipulação em Farmácia, garantindo assim a liberação do medicamento ao paciente, com segurança e qualidade (Art. 8º).

O Art. 9º, complementa que, cabe ao farmacêutico a manipulação, dispensação e aconselhamento farmacêutico no uso de plantas medicinais e seus

derivados, fitoterápicos manipulados e industrializados em atendimento a uma prescrição médica, ou na automedicação responsável (BRASIL, 2008).

A resolução Nº 586, DE 29 DE AGOSTO DE 2013, normaliza a prescrição farmacêutica e dá outras providências. Faz considerações sob as resoluções seguintes: Resolução/CFF nº 467, de 28 de novembro de 2007, que regulamenta e estabelece as atribuições e competências do farmacêutico na manipulação de medicamentos e de outros produtos farmacêuticos; a Resolução/CFF nº 546, de 21 de julho de 2011, que dispõe sobre a indicação farmacêutica de plantas medicinais e fitoterápicos isentos de prescrição e o seu registro; e a Resolução/CFF nº 546, de 21 de julho de 2011, que dispõe sobre a indicação farmacêutica de plantas medicinais e fitoterápicos isentos de prescrição e o seu registro (BRASIL, 2013).

O farmacêutico é entre os habilitados na área da saúde, capaz de garantir e colaborar com a sociedade e com o Sistema Único de Saúde (SUS) para a promoção do uso racional da fitoterapia. Estabelecido pela Resolução nº 06 de 2017 do Ministério da Educação, as Novas Diretrizes Nacionais (DCNs) do curso de farmácia, visa a formação de farmacêuticos que proponham cuidado direto ao paciente e comunidades, multidisciplinarmente em favor da saúde pública, conduzindo assim ao desenvolvimento de destrezas e competências para o cuidado em saúde (SOARES et al., 2021).

2.4 Perspectivas futuras, novas drogas, descobertas

A partir de produtos naturais, plantas medicinais ou através de síntese química planejada são obtidos hoje muitos fármacos em uso clínico. As substâncias biologicamente ativas podem ser obtidas de fontes valiosas como as plantas, fungos, insetos, organismos marinhos e bactérias (NASCIUTTI, 2012).

Segundo Costa e Nunez (2017), fitoterápicos e fitocosméticos, entre outros produtos, podem ser derivados da biodiversidade, sendo que, processos de estudos e tecnologia, projeto e gestão de inovação são indispensáveis para que a obtenção um produto pronto. Dando importância não somente em lucros, mas respeitando a natureza, como também os agricultores familiares, que são a base da cadeia produtiva.

O desenvolvimento de fármacos modernos provindos de produtos naturais, necessita de bastante material para se obter todas as informações importantes necessárias para análise da bioatividade. O alcance a amostra natural em abundância, o período aplicado ao isolamento do composto bioativo e a reprodução da preparação são algumas dificuldades encontradas. Para reposição de material, a dificuldade se encontra em achar o organismo de origem, seja ele planta, fungo ou micro-organismo, pois existem fatores que podem interferir na composição química, como o local e o período do ano em que o material foi coletado, do qual podem não estar acessíveis ou disponíveis em pouca quantidade pelo organismo da biota. Um exemplo clássico, se trata do isolamento do taxol que demorou mais de dois anos a partir do momento que se descobriu que o extrato de *Taxus brevifolia* exercia uma ação significativa anticâncer. Desenvolver um novo fármaco exige atenção, grande investimento e riscos na etapa de descoberta, porém, é incansável a busca de cura para aquelas enfermidades sem tratamento (TRIVELLA, et al., 2022).

Para se chegar a um produto final, fármaco e/ou medicamento, até mesmo a sua comercialização, várias substâncias são rejeitadas e poucas são usadas, durante a investigação de uma molécula ativa em uma planta. Embora exista alguns contratempos, a elaboração de novos fármacos de origem natural é muito importante, sendo assim, o aprimoramento de técnicas e a produção de estratégias são objetivos de alguns estudiosos da área para se alcançar compostos bioativos. Silveira e Carvalho (2021), citam que atualmente, há cinco estratégias podem ser mencionadas como relevantes na efetivação desses estudos, são elas: estudo bioguiado, estudo bioguiado com sinergia, metabômica, isolamento fitoquímico e "abordagem direcionada ao metabolismo"

2.5 Toxicidade das Plantas Medicinais

A ideia que tem se perpetuado ao longo do tempo com relação a uso de plantas medicinais, é que tudo o que é natural não oferece risco a saúde. Para tanto, isto é visto pelos estudiosos da área como um grande problema, sobretudo no Brasil, com público grande que recorrem aos recursos naturais para finalidades terapêuticas. Este modo de pensar pode colocar os usuários em um estado de vulnerabilidade em decorrência do efeito tóxico produzido por muitas substâncias que estão presentes nas plantas medicinais.

As plantas produzem uma ampla gama de substâncias químicas que podem desencadear uma variedade de atividades biológicas diversificadas, e no que lhe concerne, representam um importante recurso terapêutico para grande parte da população, sobretudo aquelas que não tem acesso aos medicamentos.

Embora todas as plantas sejam tóxicas quando ingeridas em determinadas quantidades. Estas plantas tóxicas são definidas como todas as aquelas que, se contatadas, inaladas ou ingeridas, podem causar danos à saúde humana e animal e levar à morte. Estas plantas têm em sua composição substâncias que pode causar uma reação nociva, e podem ainda sofrer influência de questões como a qualidade do cultivo, colheita ou extração inadequada dos seus constituintes. Baseado neste contexto, dados do Sistema Nacional de Informações Tóxico Farmacológicas (SINITOX), destacam que no ano de 2010, o Brasil registrou aproximadamente 1.132 casos de intoxicação por plantas (MENDIETA,2014).

Campos et al. (2016), aponta que o quantitativo de intoxicações motivadas pelo uso de plantas no ano de 2012 no Brasil foi um total de 1026 casos, correspondendo a 1,2% dos episódios de intoxicação humana. As plantas tomam o 13º lugar, com relação ao número de casos de intoxicação, com aproximadamente 1185 notificações no SINITOX. Embora seja raro os casos fatais de intoxicações humanas ocasionadas por plantas e o número absoluto de eventos registradas ser baixo, é preciso que a análise estatística dos dados sejam avaliados com certa prudência, considerando que inúmeros casos não são registrados, ou podem ter sua notificação atrelada a uma exposição determinado agente tóxico desconhecido.

De 2015 a 2017 o SINITOX registrou um total de 3.145 casos de intoxicação por plantas, deste quantitativo 2.350 foram registrados na região Sul, sendo que a região norte apresentou o menor número de notificações. É provável que haja uma problemática relação a subnotificação, que envolve todo um conjunto de fatores como conhecimento de profissionais, acesso ao sistema, acesso à internet e até mesmo situações relacionadas com a identificação no momento do diagnóstico (SINITOX, 2022).

Oga, Camargo e Batistuzzo (2008), explanam que o efeito tóxico de uma substância em um organismo pode ser pensado como a sua capacidade de causar danos graves ou morte ao corpo. O princípio básico por detrás da ocorrência de

danos é que existe uma interação entre a substância química e o organismo humano. A relação entre a intensidade da exposição, concentração e duração da exposição tende a influenciar diretamente no nível de intoxicação. As diferenças individuais também devem ser tidas em conta, como no caso dos polimorfismos genéticos, diferentes indivíduos da mesma espécie têm diferentes graus de toxicidade. As substâncias altamente tóxicas contribuem para a toxicidade quando tomadas.

Os efeitos tóxicos originados pelas substâncias químicas causados em sistemas biológicos têm sua manifestação apenas se o agente tóxico atingir sítios específicos e estar em concentração e tempo suficientes para produzir o efeito. Algumas substâncias químicas apresentam baixa toxicidade quando estão em sua forma nativa, porém posteriormente ao processo de biotransformação estão transformadas em configurações mediadoras responsáveis pelas implicações tóxicas. Portanto, o surgimento da resposta tóxica tem sua dependência nas características químicas e físicas da substância, somado ao fator da exposição via de administração, além da suscetibilidade do sistema biológico (OGA; CAMARGO, BATISTUZZO, 2008).

Os produtos naturais são fontes de moléculas que podem dispor de diversas atividades farmacológicas. No caso de extratos de plantas, para que se chegue ao processo de identificação de um princípio ativo, faz-se necessário a realização de um conjunto de estudos e testes. Uma das atividades biológicas possivelmente presente em determinadas substâncias são os agentes antimicrobianos, muitos estudos têm se voltado na busca por novas moléculas desta classe, na tentativa da inserção de novos antimicrobianos a serem utilizados na terapia clínica. Neste contexto vários estudiosos têm trabalhado no desenvolvimento de pesquisas focadas na atenção em plantas ricas em compostos bioativos, que por sua vez são conhecidos empiricamente em decorrência de suas propriedades antimicrobianas, como no caso da *Copaifera reticulata* popularmente como Copaíba.

2.6 Copaíba

2.6.1 Histórico

A origem do nome Copaíba veio do tupi “cupa-yba” cujo significado está relacionado a “árvore de depósito” ou ainda algo que contém jazida, fazendo

referência ao óleo que a árvore apresenta em seu interior. Devido as suas propriedades medicinais, o óleo de copaíba teve seu uso de modo constante pelo índios latino-americanos, que o utilizavam tanto em suas feridas decorrentes de batalhas como também no corte do cordão umbilical de recém-nascido. O conhecimento das propriedades do óleo pode ter sua origem mediante a observação do comportamento de determinados animais, que se aproximavam das árvores com a finalidade de encostar-se no óleo com o intuito de amenizar o processo inflamatório de suas feridas (PIERI;MUSSI;MOREIRA, 2009).

Por volta do século XVII, os primeiros médicos do Brasil tentavam suprir de modo parcial a escassez de medicamentos, cujo auxílio à Colônia era irregular, e com isto eles recorriam às drogas utilizadas pelos indígenas. Os viajantes abasteciam suas embarcações dessas drogas, e saíam com destinos a lugares desconhecidos. O óleo das copaibeiras era uma das drogas mais utilizadas pelos viajantes. Possivelmente tenha sido citado pela primeira vez, sendo chamado de "Copel", através de uma carta de Petrus Martius ao Papa Leão X que fora publicada em 1534 (PIERI;MUSSI; MOREIRA, 2009).

Veiga Junior & Pinto (2002), foram os estudiosos que mais mencionam o processo do contexto histórico da descoberta da Copaíba. Os autores explanam que na mesma época que da carta de Petrus Martins, o jesuíta José Acosta, também realizou a publicação intitulada "De Natura Novi Orbi", que teve sua tradução a língua francesa por volta do ano de 1606, sendo ainda traduzida para o português, com denominação de "História natural e moral dos índios", onde se enfatizava a matéria-prima natural e seu uso pelos indígenas, e a descreviam como detentora de um magnífico odor, e um efeito significativo de ação positiva na feridas e várias outras enfermidades. No ano de 1560, em carta enviada ao padre geral, o jesuíta José de Anchieta, faz menção referente a ação cicatrizante óleo de copaíba. O registro da utilização do óleo de copaíba pelos europeus foi realizado no ano de 1587, na obra de Gabriel Soares de Souza, intitulada de "Tratado descritivo do Brasil", onde o mesmo o denominou de produtos naturais decorrentes de "árvores e ervas da virtude". Por conseguinte, a primeira publicação que realmente descreveu a copaíba de maneira detalhada e explícita, incluindo ilustração de florestas da árvore, foi o trabalho conjunto de MarcGrave e Piso, realizado no ano de 1648, que

explicitaram questões morfológicas da planta, sendo está determinada como "copaíba".

Jacquin descreveu no ano de 1760, a primeira *Copaifera*, a *Copaifera officinalis*, minudando detalhes, para tanto, como não havia frutos, utilizou-se o modelo de MarcGrave e Piso, incorretamente. Posteriormente a isto, passados 2 anos, Cad von Linnaeus finalmente realizou uma descrição de modo correto da *Copaifera officinalis*, que recebeu a denominação oficial de *Copaifera* L. A partir de então muitos estudiosos buscara focar seus estudos na espécie, resultando em diversas publicações. Tendo em vista, o cenário de descoberta dos possíveis potenciais da copaíba, o governo imperial do Brasil, no ano de 1818, fez a promulgação de um ato para regulamentar o processo de extração das árvores, passível de autorização somente pelo governo, e que seriam vendidas, mas 20% de lucro, seria destinado a produção de mastros vergas de navio, objetivando a minimização da destruição das florestas de copaíba que tornou-se um evidente, sobretudo, de maneira "ilegal" (VEIGA JUNIOR, PINTO, 2002).

A copaíba tem resistido ao longo das centenas de anos, e gradativamente uma diversidade de pesquisas desenvolvidas, tem evoluído de maneira constante, e com isso vários artigos científicos evidenciam em seus resultados, as possíveis ações farmacológicas da planta. Posto isso, faz-se necessário os conhecimentos sobre as descrições botânicas, características físico-químicas, efeitos farmacológicos e toxicológicos conforme descritos nos tópicos seguintes.

2.6.2 Botânica

As copaibeiras apresentam características de árvores comuns tanto da América Latina como da África Ocidental, e estão presentes, no Brasil, mais especificamente nas regiões Sudeste, Amazônica e Centro-Oeste. Essa planta tem um período de vida de aproximadamente 400 anos, abrangem altura de cerca de 25 e 40 metros e diâmetro relativamente entre 0,4 e 4 metros, têm casca aromática, com folhagem do tipo densa, suas flores são pequenas de coloração verde escuro, tendo ainda também, uma consistência fibrosa, com frutos secos, de configuração vagem monospermicos, que por sua vez, abrem-se quando estão maduros. Já as

sementes tem cor preta e são ovóides apresentando um arilo amarelo (SILVA, et al. 2010).

A árvore de copaíba é pertencente à família *Leguminosae*, com subfamília na *Caesalpinoideae* e seu gênero é o *Copaífera*. No geral, o gênero abrange cerca de 72 espécies, no Brasil existem cerca de 20; dessas, mais ou menos 17 são endêmicas, e podem ser encontradas no país espécies como a *Copaífera officinalis* L., *Copaífera multijuga* Hayne, *Copaífera reticulata* Ducke, *Copaífera cariacea*, *Copaífera confertiflora*, *Copaífera langsdorffi* e *Copaífera cearenses* (GARCIA, YAMAGUCHI, 2012). Um ponto a ser destacado, é com reação as flores, que são sésseis, apresentando um cálice vermelho tipo ferrugem, com um glabro branco externo, e internamente denso piloso. As pétalas medem de 4 a 5 mm de comprimento e apresentam um leve tom vermelho-ferrugem. A floração da Copaíba acontece entre os meses de outubro e julho, já o processo de frutificação ocorrer entre junho e outubro, podendo existir certas variações destes intervalos, fato que vai defender de cada região ou ainda do clima presente, porém há uma falha de florescimento anual, em determinadas regiões. No período da frutificação, as copaibas recebem a visita de aves durante a noite, e são estes seres os grandes responsáveis pela realização da dispersão das sementes (CORDEIRO,2013).

De acordo com Cardoso et al. (2011), o tronco da árvore de copaíba possui um enorme valor comercial, em decorrência de sua consistência firme, devido a presença de fibras alinhadas e unidas, fato que evita que o mesmo seja tronco seja completamente ocado, tornando assim a madeira mais resistente, sendo bastante útil na produção de colunas, caibros e vigas¹. A casca do tronco é descrita como rugosa, de coloração castanho-escuro, e tem alternância esbranquiçada mostrando um aspecto bicolor, possui aroma e concentra boa parte do óleo, o que botanicamente pode justificar o odor presente.

O óleo das copaibeiras pode ser achado nas pequenas bolsas, que tem sua distribuição no xilema primário e nas folhas, a ocorrência da secreção acontece em canais secretores existentes em todas as partes da planta. Tais canais são denominados de canais esquizógenos, que tem formação na dilatação de cavidades intercelulares, nomeados de meatos, que estabelecem uma intercomunicação no meristema. Os canais tem sua organização na disposição vertical e interconectados,

¹ São peças produzidas a partir da madeira, sendo comumente utilizadas na construção de residências.

de modo, que ocorre a drenagem do óleo quando há uma perfuração em um deles, permitindo sua extração. O termo adequado para indicar este óleo é óleo-resina de copaíba, considerando que é um exudato formado por ácidos resinosos e outros compostos voláteis (HECK; VIANA, VICENTINI,2012).

Os métodos narrados para a extração do óleo de copaíba são diversos. No período de descoberta da árvore, o óleo era obtido por meio de cortes feitos com o machado no tronco, fato que inutilizava a árvore. A incisão era realizada em formato de V, e abaixo eram colocados vasos adequados para receber o óleo, processo bastante semelhante com a extração de borracha, denominado de método do arrocho, que incide em realizar a selagem do tronco, no local abaixo das incisões, com a utilização de embiras e cipós e posteriormente fazer a coleta do óleo da árvore até que este esgote, também ocasionando sua morte, porém, tais métodos foram abandonados. O processo de retirada através de bomba de sucção também é descrito na literatura, porém raro difundido. Uma prática de coleta caracterizada como não agressiva, é geralmente aquela desenvolvida por meio de uma incisão com trado a aproximadamente 1 metro de altura do tronco. Após a finalização da coleta, o orifício é ocluído com argila, com a finalidade de evitar a invasão da árvore por microorganismos como fungos ou cupins. A retirada da argila pode ser feita de maneira fácil, possibilitando que outras coletas sejam feitas no mesmo local do mesmo tronco, podendo obter uma quantidade de óleo superior ou até mesmo igual à da primeira retirada (VEIGA JUNIOR, PINTO, 2002).

O óleo é naturalmente um elemento de desintoxicação e excreção organismo vegetal, tendo como finalidade promover a defesa da planta contra fungos e bactérias (GARCIA, YAMAGUCHI,2012). E tem em as composições diversas substâncias físico-químicas, que podem apresentar ativos farmacologicamente significantes.

2.6.3 Características Físico-químicas

Os óleos vegetais compõem um conjunto de substâncias, cuja a extração pode ocorrer de diversas partes de uma planta, especialmente das sementes ou grãos de oleaginosas, neste ponto diferenciam-se dos óleos essenciais devido a não apresentação de volatilidade, em decorrência de não serem adquiridos por meio de

destilação e terem em sua constituição a predominância de ésteres de glicerol e ácidos graxos que envolvem monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos. O processo de interação entre os elementos que compõem o óleo vegetal são uma característica complexa, com mistura de diversos compostos químicos resultando nas propriedades físicoquímicas do produto (FERREIRA et al. 2016).

Pieri, Mussi e Moreira (2009), explanam que o primeiro sujeito que realizou a descrição do óleo de copaíba no ano de 1829, foi Schweitzer. Na ocasião foi observada a cristalização de substância, que foi denominada de ácido copaívico, devido a permanência em repouso por tempo prolongado do óleorresina. Deste então, posteriormente outras substâncias foram descritas, como no caso do ácido oxycopaívico, destacado por Fehling no ano de 1841, ou ainda do ácido metacopaívico, apresentado por Strauss em 1865.

O óleorresina de copaíba é um tipo de resina líquida que possui alta concentração em sesquiterpenos e também de diterpenos de distintas concentrações. A parte mais volátil e leve, é formada pelos sesquiterpenos, já a fração mais densa, resinosa, tem diterpenos em sua composição. A fração do óleo essencial é composta basicamente, em sua base há presença de sesquiterpenos e na fração de resina, existe um conjunto de ácidos diterpênicos. Na temperatura ambiente, tem-se uma consistência líquida, de forte aromatização, com sabor acre, que persiste, com amargo e adstringente. As características físico-químicas tem variação de líquido transparente para opaco; indo de baixa a intensa viscosidade; alterando de uma cor relativamente incolor, amarelo-pálido para o castanho claro dourado (RIGAMONTE-AZEVEDO et al., 2004).

De acordo com Pieri, Mussi e Moreira (2009), os principais sesquiterpenos que estão presentes na copaíba são o beta-cariofileno que apresenta ação anti-inflamatória, antifúngica, antiedêmica e antibacteriana, já o beta-bisaboleno, em possíveis propriedades analgésica e anti-inflamatório. Assim, os diterpenos mais achados compreendem o ácido hardwíckico, ácido copálico, colavenol, ácido copaíferico e vários outros.

2.6.4 Ações Farmacológicas

O uso do óleo de copaíba é bastante utilizado nas indústrias de cosméticos, devido a composição com propriedades emoliente, anti-inflamatória e antibacteriana,

sendo comumente usados no processo de manufatura de sabonetes, espumas de banho, cremes, condicionadores, hidratantes corporais e para os cabelos (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

Na literatura há uma diversidade de trabalhos que mencionam as ações farmacológicas da copaíba, em um levantamento bibliográfico realizado por Veiga Junior e Pinto (2002), evidenciou-se as indicações etnofarmacológicas das propriedades da copaíba, que compreendem ação nas vias respiratórias, vias urinárias, com efeito anti-inflamatório, expectorante, cicatrizante, antisséptico entre outros.

De acordo com Garcia, Yamaguchi (2012), a propriedade anti-inflamatória é mais estudada, na ocasião os autores citam o trabalho de Basil et al. (1988), que pesquisaram a atividade do óleo comercial de copaíba em ratos, no estudo houve a inibição de edema que fora induzido, diminuição na formação de um granuloma, redução do processo de permeabilidade vascular originada por meio da liberação intradérmica de histamina.

A utilização tópica do óleo de copaíba em feridas beneficiou a ação de reprodução do tecido de granulação, possibilitando o aumento deste em direção a parte central da ferida, contribuindo para o progresso cicatricial da lesão. No que tange ao alargamento da ferida, o emprego tópico do produto colabora significativamente para a tonicidade muscular se recupere, com ampliação da perfusão sanguínea na a região onde foi aplicada (MONTES,2009).

Parente (2015), realizou um estudo com o óleo da *Copaifera reticulata*, e chegou ao resultado, onde o óleo inibiu de maneira relevante com relação migração de eosinófilos para o espaço da inflamação. Enfatizou-se no trabalho do autor que os vários tipos celulares podem sofrer atração por elementos quimioatraentes, que são sobretudo, os leucotrienos, e a histamina. Neste contexto, supõe-se que produto tenha feito a inibição da atuação da histamina e podendo possivelmente exercer também ação sobre o sistema de citocinas.

Nos estudos de Ziech et al. (2013), os resultados obtidos nos testes de atividade antimicrobiana *in vitro* explanaram que existiu ação inibitória do óleo/resina de *Copaiba reticulata* nos 26 isolados de *Staphylococcus coagulase* positiva. O controle realizado usando apenas o metanol não desenvolveu inibição do crescimento bacteriano. Assim, os resultados descobertos no estudo com o

óleorresina de copaíba ratificam a ação antibacteriana achada em outras pesquisas que foram desenvolvidas com óleorresina de copaíba.

Lima et al (2020), descrevem em seus estudos, que a análise bioquímica possibilitou observar que posteriormente ao tratamento tópico com nanogel de *Copaíba reticulata*, não exibiu resultado relevante sobre o processo de reparar a musculatura esquelética em ratos Wistar. No entanto, quando conferido a terapia com o óleo-resina de *C. reticulata* associada à fonoforese, este evidenciou mais efetividade no processo de reparação da musculatura esquelética, contudo, os animais explanaram sinais comportamentos de irritabilidade cutânea, com a realização de aplicação por 5 dias consecutivos do óleo de copaíba in natura.

Nos trabalhos de Frota et al. (2018), os resultados encontrados na pesquisa realizada confirmaram o potencial anticancerígeno do óleorresina de copaíba. Os encontrados são promissores, com relação ao uso do grande potencial biológico deste produto natural, para o desenvolvimento de fármacos que atuam em diversos tipos de cânceres. Para tanto, existe a grande necessidade de estudos de aprofundamento, realizando testes na atividade citotóxica do óleorresina de *C. reticulata* e suas frações em concentrações diferentes, ainda necessitam ser realizados para seja encontrado uma concentração ainda menor, que tenha a capacidade de inibir a proliferação celular de células cancerígenas, sem apresentar atividade tóxica para células saudáveis.

2.7 Ensaios de Toxicidade

A Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (Organization for Economic Co-operation and Development - OECD) se destaca entre as Agências Reguladoras Internacionais que determinam protocolos para os testes de avaliação de toxicidade. Criada em 1961, com sede em Paris, França, contém 30 países membros. A OECD cria protocolos - Guidelines para a realização de testes toxicológicos com objetivo regulatório, os quais são seguidos no mundo (VIEIRA, 2009).

Os testes toxicológicos são usados para determinar o nível de consumo de substâncias inofensivas para os seres humanos. Para isso, a quantificação desse nível deve ser realizada por meio de diferentes níveis e parâmetros. A quantificação de um grau de consumo diário de um composto químico, tendo como base o peso

corporal do ser humano, como aditivos alimentares, compostos farmacológicos, que podem ser ingeridos com segurança, não ocasionando risco aos seres humanos, é expressada com base no peso corpóreo e intitulado de IDA (Ingestão Diária Aceitável), cuja a determinação é realizada através testes toxicológicos. Entretanto, antes da determinação da IDA, é preciso que seja estabelecido o grau de consumo inferior do qual o efeito toxicológico não é observado, sendo determinado como NOAEL (MOURA et al., 2012).

A partir do NOAEL (*no observed adverse effect level*) se quantifica o grau de IDA, através da divisão do nível de NOAEL por meio de um fator de segurança, tem sua dependência na substância, porém, é empregado geralmente o valor 100, contudo esse fator varia de acordo com da substância em investigação, podendo ser maior ou menor. Tal fator de segurança, tem sua gênese, em decorrência de múltiplos aspectos que influenciam tanto na toxicidade de uma substância, como também no prejuízo que ela pode ocasionar ao ser humano. Considera-se inicialmente os parâmetros do sistema biológico tais como temperatura, idade, peso corpóreo, estado nutricional e patológico e ainda os fatores genéticos. Posteriormente, são avaliadas as características exibidas pela substância, como tamanho e forma das partículas, características físico-químicas e sensibilidade da substância no tecido ou organismo humano (MOURA et al., 2012).

Para a determinação do NOAEL, é preciso que sejam feitos os testes toxicológicos, tais como o estudo de toxicidade aguda, crônica, genotoxicidade, carcinogenicidade, imunotoxicidade, entre outros.

2.7.1 Toxicidade Oral Aguda

A primeira atividade a ser realizada para identificar e caracterizar os agravos que um novo composto pode ou não ocasionar ao ser humano, segundo Vieira (2009), é o teste de toxicidade oral aguda, comumente realizados em animais. No qual o produto testado é administrado através de uma sonda gástrica que se utiliza um tubo estomacal ou uma cânula de intubação adequada.

Para o teste de toxicidade oral aguda, utiliza-se as orientações descritas no protocolo OECD 402 (2017), onde o produto de pesquisa é usado sobre a pele do animal em doses graduadas. Então, para a aprovação de produtos químicos sem uma avaliação pontual de toxicidade, se aplica doses adequadamente separadas,

permitindo assim, que o produto químico estudado seja classificado para fins de classificação de perigo segundo o Sistema Globalmente Harmonizado (GHS).

Segundo a The Organization for Economic Co-operation and Development - OCDE (2002), a presença de reações prejudiciais após a aplicação oral de única dose de um produto ou várias doses aplicadas em 24 horas, são designadas toxicidade oral aguda. Segundo alguns estudos as fêmeas se apresentam mais sensíveis, e se tornam de primeira escolha para esses testes, mesmo havendo uma diferença pequena de sensibilidade entre os sexos, porém, os machos também poderão ser usados para os estudos se apresentarem mais sensibilidade (OCDE, 2002).

Através do teste de toxicidade aguda é possível estabelecer o parâmetro de dose letal (LD50). A LD50 é determinada como a quantidade de certa substância química, que quando “ingerida em uma só dose oral, expressa em mg de substância química por massa do organismo em kg, causa a morte de 50% dos animais expostos a substância, dentro de um período de 14 dias” (MOURA et al., 2012). Entretanto, por volta da década de 70, o teste passou a ser empregado como teste de comparação e classificação da toxicidade, tornando-se posteriormente um teste de pré-requisito para várias agências reguladoras com a exemplo do FDA, ANVISA, responsável por aprovar novos aditivos alimentares, químicos industriais, novos fármacos e etc.

2.7.2 Toxicidade Dérmica Aguda

No ano de 1987 foi adotada a diretriz de toxicidade dérmica aguda TG 402. As Diretrizes da OCDE para Testes de Produtos Químicos têm sua revisão de modo periódico, conforme o progresso científico e das considerações de bem-estar animal.

Neste teste, os produtos químicos não devem ser aplicados em doses conhecidas por ocasionar dor e desconforto marcantes, em decorrência de ações severamente irritantes. O produto químico em estudo é administrado a animais individualmente, em modo sequencial, com dois animais empregados em qualquer grau de dose. “Geralmente, se um estudo de toxicidade dérmica aguda for necessário porque os critérios de isenção não se aplicam, a toxicidade dérmica

aguda esperada provavelmente será desconhecida ou alta” (por exemplo, LD50 < 200 mg/kg de peso corporal) (OCDE,2017).

2.7.3 Toxicidade Dérmica em Doses Repetidas

Na RESOLUÇÃO-RE Nº 90, DE 16 DE MARÇO DE 2004 trata do Guia para realização dos testes de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos, onde descreve toda conduta a ser tomada quanto aos testes de toxicidade aguda e toxicidade dérmica em doses repetidas.

Segundo o “Guia para a Condução de Estudos Não Clínicos de Toxicologia e Segurança Farmacológica Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos” da Anvisa, a partir de ensaios de toxicidade de doses repetidas há possibilidade de obter-se dados sobre efeitos tóxicos, identificação de órgãos alvos, efeitos na fisiologia do animal, hematológicas, bioquímicas, anátomo e histopatológicas, além de subsídio sobre a indicação do NOEL e NOAEL. Esse teste tem como propósito, indicar o perfil toxicológico de substâncias pela administração repetida (ANVISA, 2013).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

- Realizar ensaios pré-clínicos *in vivo* de segurança do óleo-resina de *Copaifera reticulata*.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar a caracterização química do óleo-resina de *Copaifera reticulata*.
- Avaliar a Toxicidade oral aguda do óleo-resina de *Copaifera reticulata* em ratos *Wistar*.
- Realizar o estudo da toxicidade dérmica aguda da *Copaifera reticulata* em ratos *Wistar*.
- Avaliar a Toxicidade dérmica em doses repetidas de *Copaifera reticulata* em ratos *Wistar*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal

O material vegetal, a *Copaifera reticulata*, foi obtido na Floresta Nacional do Tapajós - FLONA, no município de Belterra, na Região Oeste do Pará, entre as coordenadas geográficas de 3° 4' 17" S e 54° 59' 32.31" O, altitude de 165,23 m. Após a coleta, realizou-se a identificação botânica e exsicata, o qual foi alocada no herbário da Embrapa Oriental – NID: 69/2011.

4.2 Obtenção do material vegetal

No método de extração da óleorresina da *C. reticulata*, foi utilizada técnica não agressiva às copaibeiras, descrita por Guarino et al, (2016), com perfuração de orifícios, com um trado, na altura de 1 metro e 1,50 metro acima da base da planta. Posteriormente ao escoamento do óleorresina, o local de incisão foi vedado com PVC (policloreto de vinila), com $\frac{3}{4}$ de diâmetro e 10 cm de comprimento, dispendo de uma tampa de plástico, cuja finalidade de utilização dar-se mediante a possibilidade de facilitar as coletas seguintes e proteger a árvore contra possíveis agentes contaminantes, como bactérias e fungos. A hidrodestilação para fracionamento do óleorresina de *Copaifera reticulata* por arraste a vapor, foi realizada no aparelho de clevenger.

4.3 Perfil cromatográfico/ fitoquímico da oleorresina

Para a identificação de compostos, realizou-se análises cromatográficas utilizando o cromatógrafo à gás (Thermo Scientific) com detector de massas (CG-EM), equipado com auto-amostrador (TriPlus RSH) e coluna capilar apolar (Tr-5; 30 m x 0.25 mm ID x 0.25 μ m). Os óleos de copaíba foram solubilizados em diclorometano destilado e inseridos no sistema cromatográfico (1 μ L) em modo Split, (1:50) numa vazão de 2 mL. min.⁻¹. Os compostos químicos foram ionizados por impacto de elétrons com energia de 70 eV, num sistema quadrupolo com varredura de 40 a 400 uma.

4.4 Aspectos Éticos

Essa Pesquisa foi submetida e aprovada no Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Universidade Federal do Oeste do Pará (CEUA – UFOPA), com número de protocolo 0320220198 na data 09 de maio de 2022 (ANEXO I).

4.5 Animais

Foram utilizados ratos albinos *Wistar* de ambos os sexos, sendo um total de 3 para o teste de toxicidade oral aguda, 6 para o teste de toxicidade dérmica aguda e 40 para o teste de toxicidade dérmica em doses repetidas. Cada animal apresentava idade inicial de 60 dias, com média de peso inicial 160 e 220 g/massa corporal, provindos do Biotério da Universidade do Estado do Pará, campus Santarém, umidade (50 - 60%) e temperatura controlada ($21\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$) e ciclo circadiano de 12 horas. Os ratos foram previamente selecionados alocados em gaiolas (FIGURA 1) e identificados quanto a droga e grupo pertencente, se macho ou fêmea, começo do tratamento, data de nascimento, sendo que cada gaiola continha apenas um animal.

Figura 1: Organização de gaiolas para experimento dos animais



Fonte: Autoria própria

4.6 Ensaio de Toxicidade

4.6.1 Toxicidade Oral Aguda

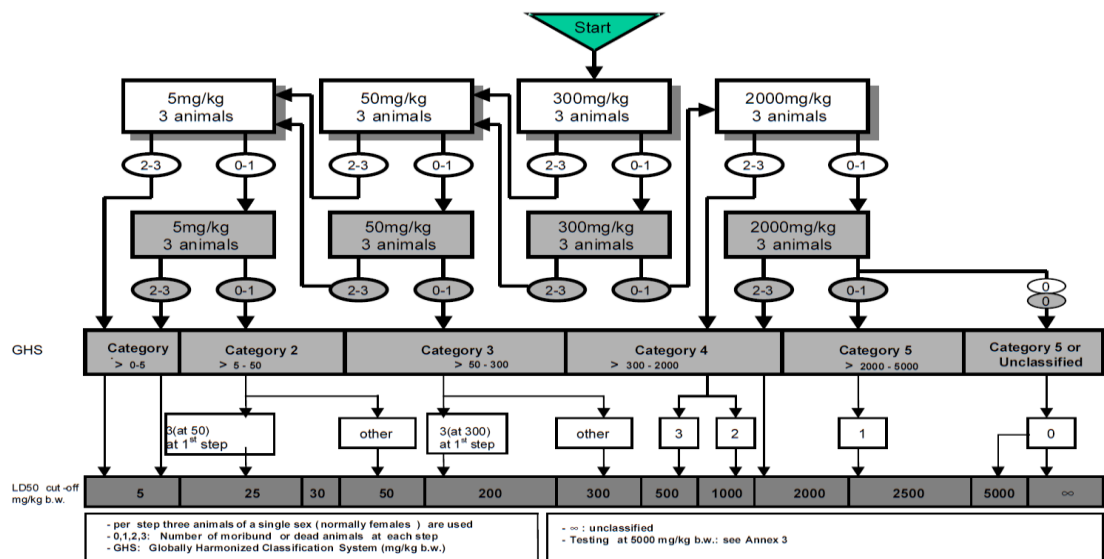
A toxicidade oral aguda, foi realizada de acordo com protocolo OCDE-423/2001, que estabelece as doses e os procedimentos a serem executados neste tipo de teste. Para o estudo, administrou-se inicialmente em grupo de 3 animais, por

via oral, através de sonda gástrica utilizando um tubo estomacal, o óleo-resina da *Copaifera reticulata*, em uma dose inicial única de 2000 mg/kg de massa do animal, dose essa já estudada em outras pesquisas, que já definiram a dose tóxica e a DL50 da *Copaifera reticulata* (Copaíba) e de outros produtos naturais.

Conforme as orientações protocolo OCDE-423/2001, posteriormente ao recebimento da dose do produto natural, os animais foram acompanhados pelo menos uma vez a cada 30 minutos nas quatro primeiras horas, periodicamente durante as primeiras 24 horas, e diariamente, até um total de 14 dias, para avaliação de possíveis efeitos tóxicos, como as alterações dérmicas, no pelo, olhos, membranas, mucosas, e também nos sistemas respiratório, circulatório, autônomo e nervoso central, atividade somatomotora e padrão de comportamento, parâmetros estes importantes a serem observados, da mesma forma, sinais de tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono, coma, dor, sofrimento, peso corporal e consumo de ração.

Após a finalização do teste os animais foram submetidos a necropsia seguida de análise macroscópica dos órgãos, para verificação de possíveis alterações patológicas grosseiras. O procedimento para avaliação da toxicidade oral aguda consegue estipular uma análise quando se trata da classificação de substância de ensaio em uma série de classes de toxicidade estabelecidas por valores-limite fixos de DL-50, quando o indivíduo/animal recebe a substância em estudo, há uma classificação de riscos que se fundamenta na avaliação biométrica com doses fixas (Figura 2 — Fluxograma da Toxicidade Aguda).

Figura 2 - Fluxograma da Toxicidade Aguda.



4.6.2 Toxicidade Dérmica Aguda

O teste de toxicidade dérmica aguda (TDA) seguiu a metodologia preconizada pela (OECD) n.º 402/2017. Para esse teste, foram utilizados um total de 06 animais (Controle n:1; Experimento n:1 para o primeiro teste e Controle n:2; Experimento n:2 para o segundo teste).

Inicialmente utilizou-se 1 animal para o experimento (teste 1), na dose de 2000 mg/Kg de peso, e o controle realizado por meio Tween 80 à 1% diluído em água destilada. No dia anterior à administração do produto, o animal foi submetido à depilação de 10% na parte da costa por tosquia, para que pudesse ser aplicado a droga, com melhor espalhabilidade local. Durante o período de exposição de 24 horas, foi mantida em contato com a pele, uma gaze porosa e fita não irritante. Ao final de tal período de exposição, os resíduos da substância foram removidos com solução salina 0,9% estéril.

O animal então, foi observado frequentemente durante 14 dias, onde realizou-se exame clínico, para avaliação de parâmetros como alterações na pele, olhos e mucosas, aparelho respiratório, circulatório, autônomo, sistema nervoso central, atividade locomotora, comportamental, priorizando ainda à observação de tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono e coma, uma vez por dia e inspeção do local de tratamento no período de 24, 48 e 72 horas, após a remoção do produto químico em estudo, usando os critérios de Draize.

A massa corporal (g) foi determinada posteriormente a aplicação da substância, diariamente e no descarte dos animais. Realizou-se periodicamente no animal, um controle diário de consumo de ração (g), água (ml), aparecimento de sinais de toxicidade sistêmica como perda de peso progressiva e redução da ingestão de água e ração e percentual de mortalidade durante o experimento. Após a observação dos parâmetros, o teste (teste 2) foi repetido em outros 2 animais, com a finalidade de confirmação dos resultados. Segundo OCDE, (2017), quando se realiza esse tipo de teste, os efeitos locais e sistêmicos precisam ser averiguados. Indicativos claros de alterações na pele (por exemplo, eritema de grau 3 ou 4 e/ou edema de grau 3 ou 4) no estudo dérmico pode ser usado como indicativo do potencial de irritação (Tabela 01).

Tabela 01 - Grau de reação da pele, segundo os critérios de Draize (1944).

FORMAÇÃO DE ERITEMA E ESCARAS		Grau
Sem eritema		0
Eritema muito leve (pouco perceptível)		1
Eritema bem definido		2
Eritema moderado a severo		3
Eritema grave severo a formação de escaras		4
FORMAÇÃO DE EDEMA		Grau
Sem edema		0
Edema muito leve (pouco perceptível)		1
Edema leve (bordas bem definidas)		2
Eritema moderado (aumento superior de aproximadamente 1mm)		3
Eritema severo (aumento superior a 1mm e estendendo além da área de exposição)		4

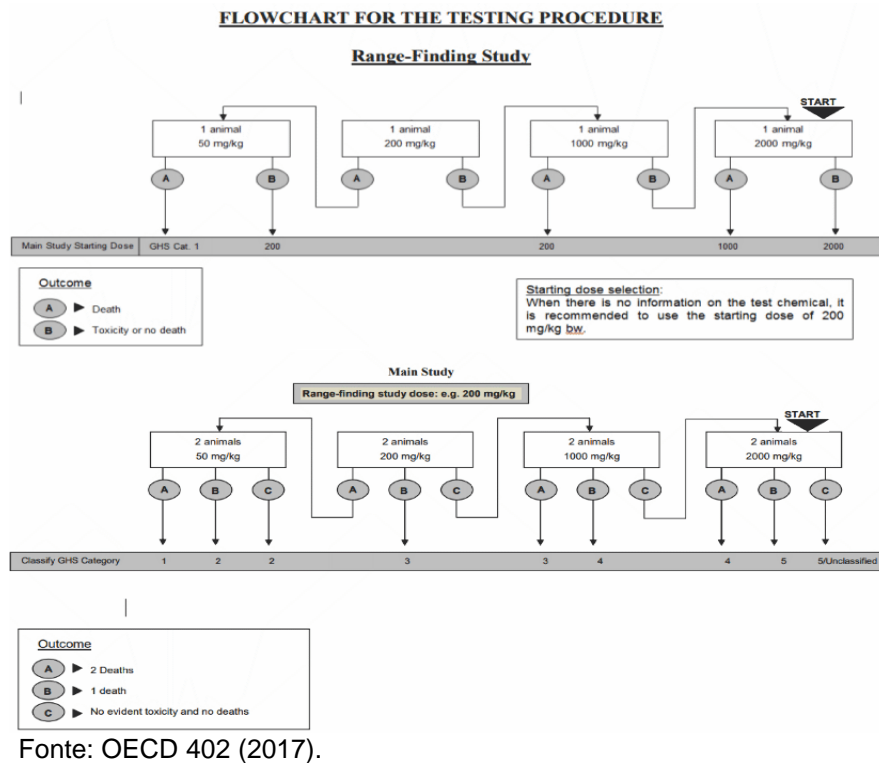
Fonte: Draize (1944).

Após esses 14 dias de observação, os animais sobreviventes foram pesados e eutanasiados conforme estabelecido pelo CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal) com sobredosagem da associação de anestésicos dissociativos (cetamina) com agonistas de adrenorreceptores alfa-2 (xilazina), administrada pela via intramuscular e a parede abdominal dos animais foram incisadas. A pele, coração, fígado, pulmão, rins, intestino delgado, intestino grosso e o pâncreas estômagos foram observados macroscopicamente.

É estabelecido que quando não se têm dados reais sobre uma substância teste, é necessário um estudo de descoberta de intervalo de dose usando 1 animal com uma dose inicial de 200 mg/kg de peso corporal para menor uso de animais e aprimorar o desenho do estudo fluxograma para procedimento teste.

Considerando o resultado da análise de determinação do alcance, para o estudo principal é permitido o uso de mais 2 animais para comprovar o resultado da classificação conforme o fluxograma para o estudo principal (Figura 03).

Figura 3 - Fluxograma do teste de Toxicidade dérmica aguda



4.6.3 Toxicidade Dérmica em Doses Repetidas

Para a realização da toxicidade dérmica em doses repetidas, foi adotado o protocolo da OECD número 410 (1981). De acordo com o protocolo, a quantidade do produto teste que se aplica na derme, é a dose do teste dérmico, devendo assim ser aplicado pelo menos três doses diferentes, com um controle (OECD 410, 1981).

No teste de toxicidade dérmica em doses repetidas, a substância de teste foi aplicada uniformemente em uma área de aproximadamente 10% da área total da superfície corporal. As doses utilizadas foram de 1000mg, 250mg, 62,5mg, da droga óleorresina da *Copaifera reticulata*, por quilograma de peso corporal do animal. A substância teste foi aplicada diariamente na pele em doses graduadas aos grupos de animais experimentais, uma dose por grupo, por um período de 21/28 dias.

Durante o experimento, os animais foram observados e registradas as alterações comportamentais (diariamente), variação do peso corpóreo, consumo de água, e consumo de ração, para este último elemento, os dados são apresentados em peso (gramas \pm desvio padrão), cada grupo possui um n de 5 animais, que foram

pesados no dia 1, 7, 14 e 21 do experimento, análise estatística realizada foi o de ANOVA two way seguido do Teste de Múltipla comparação de Turkey.

Outros possíveis sinais indicativos de toxicidade, também foram observados, incluindo o tempo de início, o grau e a duração. As observações compreendem as alterações na pele e pelagem, olhos e membranas mucosas e também respiratórias, circulatórias, sistema nervoso autônomo e central, atividade somatomotora e padrão de comportamento.

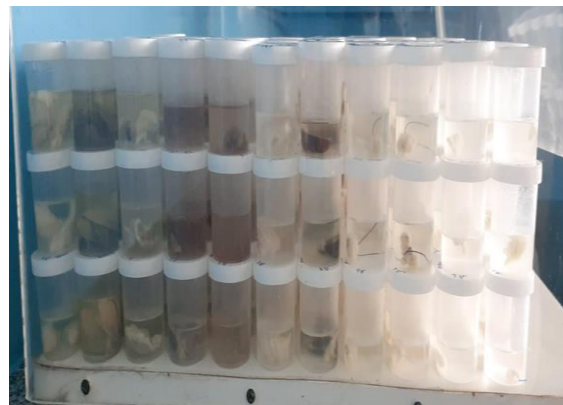
Ao fim dos estudos, os roedores foram eutanasiados com hiperdose de quetamina (180 mg/kg, i.p.) e xilazina (30 mg/kg i.p.). Os órgãos (fígado, rim, pulmão, coração, esôfago, estômago, intestino, testículo ou ovário, pâncreas e adrenal) foram coletados para serem avaliados macroscopicamente. Os valores do Peso Relativo são expressos em percentual referente ao Peso médio dos animais no dia da eutanásia (Percentual \pm Desvio Pa Padrão). A análise estatística realizada foi o de Anova two way seguido do Teste de Múltipla comparação de Turkey.

Figura 4: Animal Eutanasiado



Fonte: Autoria própria.

Figura 5: Órgãos dos animais em formol



Fonte: Autoria própria

Para avaliação dos parâmetros bioquímicos foram coletados materiais (soro), para análise bioquímica do sangue (sódio, potássio, gama glutamil transpeptidase, aminotransferases, fosfatase alcalina, uréia, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicerídeos, glicose, proteínas totais e bilirrubinas), os quais foram mensurados em analisador automático BM-200 (Mindray Company). Os dados são apresentados conforme a unidade internacional de cada analito (Média \pm Desvio Padrão). Cada grupo possui um n de 5 animais. A análise estatística realizada foi o de ANOVA two way seguido do Teste de Múltipla comparação de Turkey. Albumina (Alb), Cálcio (Ca^{2+}), Creatinina (Cre), Fósforo (Fos), Glicose (Gli), Proteínas totais

(Ptn), Transaminase oxalacética ou Aspartato aminotransferase (TGO), Transaminase pirúvica ou Alanina aminotransferase (TGP), Uréia (Ure).

Já a análise dos parâmetros hematológicos, foram avaliados a série de células vermelhas, leucócitos e plaquetas, em um analisador BC2800 (Mindray Company). Os dados são apresentados conforme a unidade internacional de cada analito (Média \pm Desvio Padrão). Cada grupo possui um n de 5 animais. A análise estatística realizada foi o de ANOVA two way seguido do Teste de Múltipla comparação de Turkey.

5 RESULTADOS

5.1 Extração de produtos naturais

O processo de hidrodestilação para fracionamento do óleo-resina de *Copaifera reticulata* por arraste a vapor no aparelho de clewenger durou cerca de 30 horas de ebulição. Das 100 gramas do óleo-resina colocado no balão de fundo redondo, foi capaz de separar cerca de 39g de resina (diterpenos – 39%) e 61g de óleo essencial (sesquiterpenos – 61%).

5.2 Caracterização Química

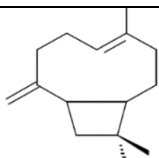
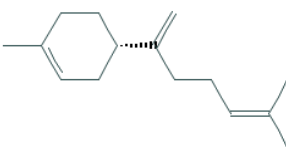
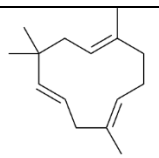
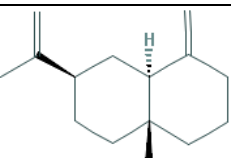
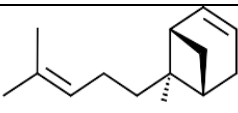
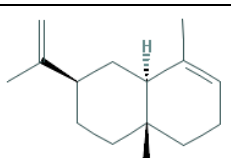
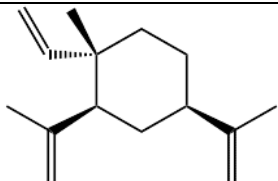
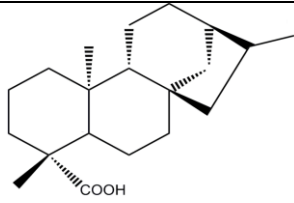
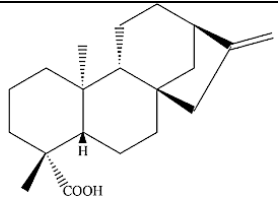
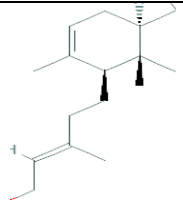
Os constituintes químicos foram identificados por comparação dos seus índices de retenção (IR) conforme disposto na literatura (ADAMS, 2007), pela co-injeção de padrões (β -cariofileno e α -humuleno) e por comparação dos perfis de fragmentação obtidos com a espectroteca Wiley 8ª edição. O percentual de cada constituinte foi expresso e descrito em valores de concentração relativa (%).

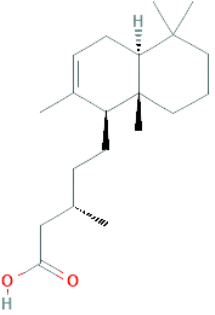
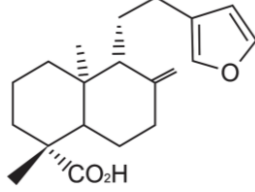
A caracterização dos constituintes químicos presentes na amostra de óleo-resina de *C. reticulata* OCR revelou a presença de 12 metabólitos secundários classificados como majoritários na amostra e que são oriundos das copaibeiras.

Do quantitativo colocado para análise, apenas 6,85% não conseguiram ser identificados e 93,15% foram identificados, sendo a presença majoritária de sete sesquiterpenos (68,26%) e cinco diterpenos (24,89%).

Entre os constituintes 3 cadeias terpênicas, destacam-se os de maiores apresentações: β -cariofileno (39,69%), β -bisaboleno (7,06%), α -humuleno (5,86%), β -selineno (5,34%) e o *trans*- α -bergamoteno (4,9%). Já os metabólitos secundários com 4 cadeias terpênicas têm destaque o ácido cauranoico (9,36%), ácido caurenoico (6,33%) e o ácido labda-7,13-dien-15-oico (4,6%). Estes dados estão apresentados no quadro 1.

Quadro 1 - Componentes majoritários de óleorresina de *Copaifera reticulata*, seu percentual, fórmula molecular, massa molar e tempo de retenção em minutos.

Sesquiterpenos		
		
β-cariofileno (39,69%) Fórmula molecular: C ₁₅ H ₂₄ Massa Molar: 204 g/mol	β-bisaboleno (7,06%) Fórmula molecular: C ₁₅ H ₂₄ Massa Molar: 204 g/mol	α-humuleno (5,86%) Fórmula molecular: C ₁₅ H ₂₄ Massa Molar: 204 g/mol
		
β-selineno (5,34%) Fórmula molecular: C ₁₅ H ₂₄ Massa Molar: 204 g/mol	Trans-α-bergamoteno (4,9%) Fórmula molecular: C ₁₅ H ₂₄ Massa Molar: 204 g/mol	α-selineno (2,99%) Fórmula molecular: C ₁₅ H ₂₄ Massa Molar: 204 g/mol
		
	β-elemeno (2,42%) Fórmula molecular: C ₁₅ H ₂₄ Massa Molar: 204 g/mol	
Diterpenos		
		
Ácido cauranoico (9,36%) Fórmula molecular: C ₂₀ H ₃₂ O ₂ Massa Molar: 304 g/mol	Ácido caurenico (6,33%) Fórmula molecular: C ₂₀ H ₃₀ O ₂ Massa Molar: 302 g/mol	Ác. labda-7,13-dien-15-oico (4,6%) Fórmula molecular: C ₂₀ H ₃₄ O Massa Molar: 290,5 g/mol

		
<p>Ácido catívico (2,49%) Fórmula molecular: $C_{20}H_{34}O_2$ Massa Molar: 306,5 g/mol</p>		<p>Ácido daniélico (2,11%) Fórmula molecular: $C_{20}H_{29}O_3$ Massa Molar: 317.45 g/mol</p>

Fonte: Autoria própria

5.3 Ensaio de Segurança

5.3.1 Toxicidade Oral Aguda

No ensaio de toxicidade oral aguda, de acordo com as observações contínuas nas 4 primeiras horas pós aplicação da droga, por determinado tempo no decorrer das 20 horas consecutivas e nos 13 dias seguintes, não foram exibidas mudanças nos pêlos, pele, olhos e mucosas, sinais de tremores, convulsões, salivação, diarreia, letargia, sono, coma, dor e sofrimento. Assim, o experimento foi realizado mais uma vez, com os 3 animais, com intuito de confirmar o resultado anterior. Com relação a análise macroscópica durante e pós eutanásia, não houve evidências de alterações nos órgãos coletados.

A avaliação do peso, foi um critério importante a se observar como indicador de toxicidade, observado no dia 1, 7 e 14 em todos os animais em experimentação. Durante os 14 dias de experimento, acompanhou-se a evolução dos animais, não sendo observada perda expressiva de peso entre a média dos grupos por dia e nem individualmente, porém, exibiram o ganho de massa corpórea, na mesma proporção quando correlacionado ao grupo controle (dados descritos na tabela 2 e 3), e sem apresentação de sinais de tristeza e redução na alimentação.

Tabela 2 - Teste para confirmação da dose máxima de segurança biológica oral. Média do peso corporal (Gramas \pm Desvio Padrão) de ratos Wistar expostos oralmente ao veículo controle de diluição da droga (Salina 0,9% e Tween 80 1%) e ao produto natural na dose de 2000 mg/Kg.

Teste 1		<i>C. reticulata</i>
Dia	Controle	2000mg/Kg
0	169,83 ± 27,23 n=3	227,33 ± 26,27 n=3
7	188,60 ± 25,45 n=3	233,33 ± 25,42 n=3
14	195,07 ± 22,05 n=3	237,00 ± 26,05 n=3

Fonte: Autoria própria

Tabela 3 - Repetição do teste para confirmação da dose máxima de segurança biológica oral. Média do peso corporal (Gramas ± Desvio Padrão) de ratos Wistar expostos oralmente ao veículo controle de diluição da droga (Salina 0,9% e Tween 80 1%) e o produto natural na dose de 2000 mg/Kg.

Teste 2		
Dia	Controle	<i>C. reticulata</i> 2000mg/Kg
0	160,15 ± 12,68 n=3	207,67 ± 20,26 n=3
7	169,83 ± 11,19 n=3	211,33 ± 20,43 n=3
14	179,03 ± 11,32 n=3	214,67 ± 20,65 n=3

Fonte: Autoria própria

5.3.2 Toxicidade dérmica aguda

Em nenhum dos 03 animais estudados foram evidenciadas alterações comportamentais, salivação, tremores, convulsões, diarreia, letargia, sono e coma. No decorrer de 14 dias foram ainda observadas as possíveis alterações físicas, como lesões, dores e sinais de doença, bem como as alterações na pele, olhos e mucosas, como também a frequência respiratória, circulatória, autonômica, sistema nervoso central e comportamento padrões. Nenhum dos fatores relacionados foram visualizados.

As variações no peso de cada animal foram calculadas e comparadas com os animais de controle. Assim, não houve perdas de pesos por animais e nem por peso médio entre os grupos, informações essas sendo organizadas no teste inicial como mostra a (Tabela 4) e segundo, conforme instrução do protocolo OECD 402 (2017) na repetição do experimento (Tabela 5).

No 14º dia os animais foram avaliados quanto aos critérios de Draize (Tabela 1), no qual todos foram conceituados com nota “zero” (0), pois não ocorreu formação de edema e nem eritema no decorrer de todos esses dias de observação. Após essa mensuração, os mamíferos foram eutanasiados e realizados a necropsia completa, como orifícios, olhos, mucosa, pelos e órgão genitores, nada de inconformidade foi encontrado. Partiu-se para a análise de órgãos como pulmões, pâncreas, rins, coração, fígado, estômago, intestino grosso, intestino delgado e a pele que foi tratada. Destes, também não foram encontradas alterações no tamanho, cor e aspectos macroscópicos. Depois que esses exames completos foram realizados, os ratos e tecidos restantes foram sacrificados e descartados.

Tabela 4 - Peso dos animais submetidos ao teste de Toxicidade Dérmica Aguda, conforme orienta o protocolo da OECD 402 (2017). Média do peso corporal (Gramas \pm Desvio Padrão) de ratos Wistar expostos oralmente ao veículo controle de diluição da droga (Salina 0,9% e Tween 80 1%) e os produtos naturais na dose de 2.000 mg/Kg.

Teste 1		
Dia	Controle	<i>C. reticulata</i> 2000mg/Kg
0	183,00 n=1	186,00 n=1
7	189,00 n=1	191,00 n=1
14	198,00 n=1	207,00 n=1

Fonte: Autoria própria

Tabela 5 - Peso dos animais submetidos à repetição do teste de Toxicidade Dérmica Aguda para confirmação, conforme orienta o protocolo da OECD 402 (2017). Média do peso corporal (Gramas \pm Desvio Padrão)

Teste 2		
Dia	Controle	<i>C. reticulata</i> 2000mg/Kg
0	192,00 \pm 4,00 n=2	199,50 \pm 6,00 n=2
7	199,00 \pm 4,89 n=2	201,00 \pm 7,56 n=2
14	206,50 \pm 4,89 n=2	214,00 \pm 4,89 n=2

Fonte: Autoria própria

5.3.3 Toxicidade dérmica em doses repetidas

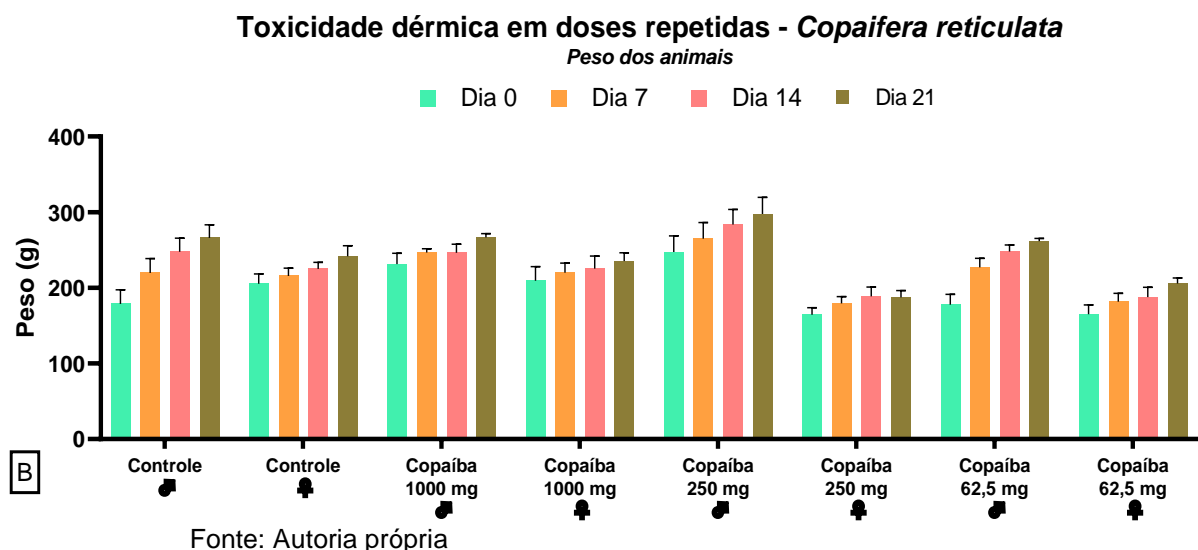
No teste de Toxicidade dérmica em doses repetidas, não foram observadas alterações na pele, olhos e mucosas, aparelho respiratório, circulatório, autônomo e sistema nervoso central, sinais de tremores, convulsão, salivação, diarreia, letargia, sono, coma, alteração na atividade locomotora e comportamental, nos roedores tratados com 1/4 e 1/8 da dose máxima permitida pelo protocolo.

Alguns animais, tanto masculino, como feminino, tratados com a Copaíba na dosagem de 1.000 mg/kg, apresentaram certos *efeitos adversos* como aumento da sensibilidade dérmica, agitação, inquietude, pilo ereção e alguns caso de diarreia.

5.3.3.1 Peso dos animais

No decorrer de 21 dias, foi aplicado nos animais a administração por via tópica, na região dorsal. Conforme demonstrado na Figura 6, nesse período de avaliação observa-se que em todos os grupos com os indivíduos analisados houve um acréscimo gradativo do peso nos animais no percurso das 3 semanas de estudo. Esse aumento foi observado tanto nos grupos controles, quanto nos experimentais, e em animais de ambos os sexos.

Figura 6 – Peso dos ratos submetidos ao tratamento no decorrer de 21 dias



5.3.3.2 Consumo de ração

O consumo de ração está presente na Tabela 6, no período em que os animais foram acompanhados, era diariamente realizada a pesagem da quantia de ração que o animal ingeriu no decorrer de 24 horas. Diante dos dados coletados, foi avaliado semanalmente o consumo da ração (Tabela 6).

Tabela 6 - Evolução do consumo de ração pelos animais submetidos ao teste de Toxicidade Dérmica por doses repetidas no decorrer de 21 dias.

		Consumo de ração (g) ± DP (n=5)							
		Dia 1		Dia 7		Dia 14		Dia 21	
Controle Feminino	-	13,20	± 1,45	12,40	± 2,88	16,80	± 0,84	19,20	± 0,84
Copaíba 1000 mg (F)		15,00	± 2,01	17,40	± 2,07	18,80	± 2,39	20,00	± 1,95
Copaíba 250 mg (F)		15,20	± 1,48	16,80	± 2,39	17,20	± 2,17	19,40	± 1,95
Copaíba 62,5 mg (F)		16,80	± 1,92	16,00	± 1,22	18,00	± 2,12	18,60	± 1,56
Controle - Masculino		14,00	± 0,80	24,00	± 1,95	24,40	± 2,50	24,80	± 2,92
Copaíba 1000 mg (M)		28,67	± 2,31	26,33	± 1,15	18,00	± 15,13	29,00	± 1,41
Copaíba 250 mg (M)		19,00	± 2,65	25,67	± 2,08	26,67	± 3,06	29,00	± 1,73
Copaíba 62,5 mg (M)		16,00	± 2,10	18,67	± 1,40	23,33	± 1,98	26,00	± 1,00

Fonte: Autoria própria

5.3.3.3 Análise macroscópica dos órgãos

Após o período de tratamento com a droga, os animais foram eutanasiados, seguindo então o protocolo da OECD 410 (1981) foi realizado a necrópsia macroscópicas dos roedores, que envolve toda superfície externa do corpo, todos os orifícios e as cavidades cranianas, torácica, abdominal e seus respectivos conteúdo. Depois de toda essa análise, não houve sinais que indicassem mudanças

significativas que pudessem confirmar efeitos tóxicos quando relacionadas ao grupo controle.

Para dá seguimento as análises, os órgãos e a pele tratada e normal dos animais foram coletados. Assim que coletado, os rins, fígado e testículos foram pesados imediatamente para evitar a secagem dos órgãos e comparados ao percentual correspondente ao peso do animal vivo.

Os três órgãos sujeitos a pesagem segundo o protocolo, estão presentes na Tabela 7, a qual mostra que nenhum exibiu alterações referente ao peso relativo com o mesmo órgão do grupo controle (em negrito) diante das análises estatísticas que foram aplicadas.

Tabela 7- Peso relativo dos órgãos dos animais submetidos ao estudo da Toxicidade Dérmica em Doses Repetidas, conforme OECD 410 (1981).

		RINS		FÍGADO		TESTÍCULO		PESO (g)	
		PESO RELATIVO (%) ± DP (n=5)		PESO RELATIVO (%) ± DP (n=5)		PESO RELATIVO (%) ± DP (n=5)		PESO DOS ANIMAIS (g) ± DP (n=5)	
Controle Feminino	-	0,716	± 0,037	4,106	± 0,132	-		246,20	± 15,21
Copaíba 1000 mg (F)		0,802	± 0,035	3,933	± 0,080	-		242,60	± 10,26
Copaíba 250 mg (F)		0,802	± 0,035	3,772	± 0,132	-		193,00	± 12,90
Copaíba 62,5 mg (F)		0,729	± 0,074	4,106	± 0,132	-		208,20	± 8,56
Controle Masculino	-	0,947	± 0,060	4,197	± 0,362	1,347	± 0,055	268,00	± 26,29
Copaíba 1000 mg (M)		0,835	± 0,046	4,204	± 0,222	1,256	± 0,011	277,67	± 5,13
Copaíba 250 mg (M)		0,851	± 0,004	4,172	± 0,115	1,181	± 0,092	268,00	± 11,31
Copaíba 62,5 mg (M)		0,853	± 0,001	4,004	± 0,033	1,265	± 0,026	261,33	± 3,21

Fonte: Autoria própria

5.3.3.4 Parâmetros bioquímicos

Conforme os dados apresentados na Tabela 8, os animais não apresentaram alterações bioquímicas significativas estatisticamente que fossem

caracterizados sinais toxicológicos quando comparados aos grupos controles masculino e feminino.

Tabela 8 - Avaliação dos parâmetros bioquímicos dos animais submetidos ao protocolo da OECD 410.

	Alb g/dL	Ca²⁺ mg/dL	Cl⁻ mEq/L	Cre mg/dL	Fos mg/dL	Gli mg/dL	Ptn g/dL	TGO U/L	TGP U/L
Controle - Feminino	2,33 ± 0,81	5,68 ± 1,91	96,2 ± 6,02	0,3 ± 0,13	31,05 ± 3,91	213,81 ± 43,33	5,94 ± 1,90	313,6 ± 12,56	85,6 ± 15,49
Copaíba 1000 mg (F)	3,04 ± 0,15	9,84 ± 0,76	95,3 ± 0,74	0,43 ± 0,07	10,98 ± 1,39	160,4 ± 21,22	6,13 ± 0,29	192,2 ± 17,20	76,8 ± 7,6
Copaíba 250 mg (F)	2,82 ± 0,67	9,65 ± 0,24	99,95 ± 2,03	0,26 ± 0,15	7,48 ± 1,36	165,9 ± 15,19	5,99 ± 1,39	214,2 ± 36,40	85,8 ± 4,76
Copaíba 62,5 mg (F)	3,32 ± 0,32	9,3 ± 0,87	99,13 ± 8,85	0,35 ± 0,13	10,5 ± 2,76	208,55 ± 36,49	7,06 ± 0,84	166,25 ± 18,39	82,33 ± 12,47
Controle - Masculino	2,53 ± 0,18	8 ± 0,67	105,42 ± 1,16	0,24 ± 0,02	10,3 ± 0,67	237,82 ± 17,83	5,35 ± 0,29	136,4 ± 4,39	75,2 ± 8,29
Copaíba 1000 mg(M)	3,01 ± 0,25	9,58 ± 0,56	98,33 ± 5,16	0,36 ± 0,11	10,3 ± 2,78	159,25 ± 26,41	6,87 ± 1,71	243,5 ± 20,01	72,25 ± 11,24
Copaíba 250 mg (M)	3,11 ± 0,07	10,17 ± 1	101,07 ± 4,37	0,28 ± 0,09	10,63 ± 4,04	179,23 ± 13,81	6,59 ± 0,21	222,67 ± 48,69	90,33 ± 2,52
Copaíba 62,5 mg (M)	3,34 ± 0,40	10,23 ± 0,12	106 ± 3,61	0,22 ± 0,06	13,37 ± 1,48	160 ± 55,11	5,94 ± 0,50	221,33 ± 8,5	77,67 ± 10,07

Fonte: Autoria própria

5.3.3.5 Parâmetros hematológicos

Todos os animais submetidos durante os 21 dias ao teste de toxicidade dérmica em doses repetidas com a Copaíba, foram sujeitos a colheita de material biológico (sangue) para análise dos parâmetros hematológicos. De tal modo, em um analisador BC2800 (Mindray Company), foi avaliado a série de células vermelhas, leucócitos e plaquetas de cada animal e os resultados apresentados na Tabela 9 e 10.

Quanto aos animais do sexo masculino, estes apresentaram alterações somente no número de leucócitos dos animais tratados com Copaíba 1000 mg/kg.

Tabela 9 - Avaliação dos parâmetros hematológicos dos animais submetidos ao protocolo da OECD 410.

	Hemácias	x10⁶/mm³	Hemoglobina	g/dL	Hematócrito %	Plaquetas 10³ /	mm³
Controle (F)	7,22	± 1,00	14,05	± 0,77	38,55	± 5,57	440,00 ± 16,31
Copaíba							
1000 mg (F)	6,83	± 0,60	13,52	± 1,15	37,72	± 2,87	620,20 ± 111,88
Copaíba							
250 mg (F)	5,29	± 0,97	14,04	± 0,89	34,78	± 4,59	616,00 ± 63,35
Copaíba 62,5							
mg (F)	6,02	± 0,57	12,56	± 0,74	34,08	± 3,15	357,50 ± 80,45
Controle (M)	7,47	± 0,11	13,90	± 0,28	39,30	± 0,14	740,50 ± 173,24
Copaíba							
1000 mg (M)	6,27	± 1,04	13,70	± 1,27	39,58	± 7,18	1076,75 ± 215,93
Copaíba							
250 mg (M)	6,00	± 2,35	14,70	± 1,11	40,33	± 12,98	752,00 ± 88,90
Copaíba 62,5							
mg (M)	7,99	± 0,68	16,37	± 0,59	16,73	± 28,98	428,33 ± 66,50

Fonte: Autoria própria

Tabela 10 - Avaliação dos parâmetros leucocitários dos animais submetidos ao protocolo da OECD 410, que avalia a toxicidade dérmica em doses repetidas no decorrer de 21 dias. Os dados são apresentados conforme a unidade internacional de cada analito (Média ± Desvio Padrão). Cada grupo possui um *n* de 5 animais. A análise estatística realizada foi o de ANOVA two way seguido do Teste de Múltipla comparação de Turkey. Leucócitos (Leuc), Granulócitos (Gran), Linfócitos (Linf), Monócitos (Mon).

	Leuc /mm³	Gran /mm³	Linf /mm³	Mon /mm³	Gran %	Linf %	Mon %
Controle (F)	6150,00	1748,10	4165,35	536,55	27,15	64,60	8,25
	± 369,68	± 129,4	± 54,94	± 286,59	± 2,90	± 1,27	± 4,17
Copaíba							
1000 mg (F)	6420,00	1617,84	4237,20	564,96	25,20	66,00	8,80
	± 1441,18	± 467,21	± 801,45	± 191,48	± 1,92	± 2,35	± 1,3
Copaíba							
250 mg (F)	6658,00	1660,51	4135,95	861,55	24,94	62,12	12,94
	± 971,4	± 460,21	± 523,01	± 287,27	± 4,12	± 6,28	± 2,94
Copaíba							
62,5 mg (F)	6724,00	1780,52	4224,02	719,47	26,48	62,82	10,70
	± 850,98	± 637,95	± 711,68	± 164,51	± 5,21	± 4,73	± 5,05

Controle (M)	7250,00 ± 919,24	2057,15 ± 118,44	4657,85 ± 529,55	535,00 ± 271,25	28,50 ± 1,98	64,30 ± 0,85	7,20 ± 2,83
Copaíba 1000 mg (M)	7740,50 ± 407,68 ****	2266,40 ± 264,75	4596,30 ± 863,49	878,55 ± 356,18	29,28 ± 4,81	59,38 ± 4,82	11,35 ± 3,29
Copaíba 250 mg (M)	7370,33 ± 669,05	1905,20 ± 818,96	4676,50 ± 2043,57	788,63 ± 326,58	25,85 ± 13,36	63,4 ±18,74	10,70 ± 5,37
Copaíba 62,5 mg (M)	7200,00 ± 563,47	1826,60 ± 73,27	4368,20 ± 446,22	1005,80 ± 82,43	25,37 ± 1,65	60,67 ± 1,53	13,97 ± 0,35

Fonte: Autoria própria

6 DISCUSSÃO

Dentre as espécies do gênero *Copaifera*, a *C. reticulata* está entre as que mais possuem um quantitativo de atividades biológicas mencionadas na literatura, os quais descrevem seus diversos efeitos como “antimicrobiano, anti-inflamatório, inseticida, antinociceptivo, antilítico, cicatrizante, ansiolítico e antiprotozoário” (JÚNIOR, 2018; SACHETTI et al, 2009; LIMA,2020).

Quanto a caracterização química dos compostos identificados na Copaíba (*Copaifera reticulata*), os achados (presença majoritária de sete sesquiterpenos (68,26%) e cinco diterpenos (24,89%), corroboram com os resultados das pesquisas realizadas na mesma espécie e gênero da Copaíba, por (Lima et al. 2020; Santos et al, 2020; Ferreira et al, 2017; Silva et al, 2016; Silva et al, 2012 e Rio,Sertié,2001), que confirmam a presença de sesquiterpenos seguidos de diterpenos, com destaque para β -cariofileno e Ácido cauranoico respectivamente.

Com relação aos ensaios de segurança, no que diz respeito a Toxicidade Oral Aguda, o estudo apontou que elementos como pêlos, pele, olhos e mucosas e demais sinais clínicos já mencionados, permaneceram inalterados. O ganho de massa corpórea seguiu em modo linear ao consumo de alimento, quando comparado ao grupo controle. Em se tratando da análise macroscópica, os órgãos não apresentaram nenhum tipo de modificação. Portanto, não houve sinais que evidenciassem um nível de toxicidade para a substância em investigação. Os estudos de toxicidade, aguda oral, do óleos resina de *C. reticulata* com doses de 300 e 2000 mg/kg, aplicadas em ratas Wistar, realizados por Sachetti (2010), relevaram a ausência de sinais clínicos de toxicidade, redução no peso corpóreo, alteração na ingestão de ração, bem como, a não apresentação de efeitos neurotóxicos (modificação em atividade motora, comportamental e sensorial).

Lima (2014), realizou um estudo com a linhagem wistar, empregando óleos resina de *C.* por via oral, onde observou que no decorrer do tratamento, não se registrou nenhuma morte e não houve sinais clínicos de toxicidade. Desta forma, não teve apresentação de alterações no que tange ao desenvolvimento ponderal dos ratos, considerando a inexistência estatisticamente significativa entre os grupos tratados e os grupos controles. O autor menciona, ainda, que apenas o consumo

diário de água foi maior nos grupos tratados, tanto nos machos como também nas fêmeas, entretanto foi relevante tão-somente entre as fêmeas. Já com relação à ingestão diária de ração, os grupos controles, tanto machos quanto fêmeas, apresentaram um maior consumo, porém não houve significância estatística entre os grupos.

Na pesquisa de Gonçalves (2014), com a uso de ratos, fêmeas e machos da linhagem Wistar, com pesos de 200- 240g, e 310-340g, e camundongos machos pesando em média de 25-35g, para os ensaios de toxicidade oral aguda utilizando o óleo de *C. multijuga*, os resultados exibiram que o óleo de copaíba até 4g/kg não causou morte ou alteração no comportamento padrão dos animais, igualmente, a inalteração da ingestão de água e ração durante o período de dias de observação determinado no protocolo OCDE-423/2001.

No estudo conduzido por Sachetti et al. (2011), para perquirir a “toxicidade para o desenvolvimento da óleorresina de copaíba obtida da *Copaifera reticulata*”, foram empregados ratos Wistar machos e fêmeas nulíparas, resultando em alterações no consumo de alimento e conseqüentemente no peso dos animais, quando submetidos a doses de 1.000 e 1.250 mg/kg de peso corporal/dia. No entanto, não foi exibida nenhuma evidência de toxicidade materna na dose de 500 mg/kg de peso corporal/dia, considerada a dose mais baixa testada. Deste modo, o estudo concluiu, que a óleorresina de *C. reticulata* não se mostrou teratogênica para ratos em qualquer nível de dosagem testado.

Nos últimos anos, tem sido publicado na literatura diversos estudos conduzidos com várias espécies de copaíba, geralmente, desenvolvidos em camundongos, Sachetti (2010), explana que tais pesquisas concernem uma baixa toxicidade aguda desta planta.

Para a Toxicidade Dérmica Aguda, também não foram observadas alterações estatisticamente significantes, considerando que não houve modificação comportamental e nem a presença de sinais clínicos de toxicidade no decorrer dos dias os quais foram expostos aos experimentos, sobretudo na região onde o componente foi aplicado. Os resultados para este tipo de toxicidade, exibem comparação com os resultados do estudo de Silva et al., (2011), que realizou em Camundongos Swiss fêmeas e Ratos Wistar machos, os ensaios de toxicidade aguda dérmica utilizando óleorresina da copaíba com uma dose máxima ou de pelo

menos 2000 mg/Kg, em uma das etapas de sua pesquisa, com a finalidade de desenvolver e caracterizar sistemas nanoestruturados. Os achados da investigação demonstram a não existência de sinais clínicos de toxicidade dérmica como irritação e escaras leves a graves, obtendo-se um score negativo (score 0).

Oliveira et al., (2015), procedeu um estudo com o objetivo de avaliar o potencial anti-inflamatório da óleorresina de *Copaifera paupera*, e no que tange ao processo de testes de segurança, mais especificamente o de toxicidade dérmica aguda. Após a aplicação de óleorresina na forma pura, no dorso dos animais, não foi observado a presença de eritema/escaras, ou formação de edema, sendo então, esses sinais classificados como grau 0 na escala. Parâmetros como alterações no comportamento e consumo alimentar não se fizeram presentes.

No que concerne a Toxicidade Dérmica em Doses Repetidas, foram obtidos dados relacionados ao consumo de ração, comportamento e peso dos animais, necropsia e peso dos órgãos. O consumo de ração ocorreu dentro dos parâmetros normais, não foram observadas diferenças significativas para este item, corroborando assim com os estudos de (SACHETTI, 2010; SAMPAIO, 2022; PACHECO,2014). Quanto ao ganho de peso, houve um crescimento de forma gradativa, tanto nos grupos experimentais como nos controles, porém, estas alterações mostram-se insignificantes à medida que correspondem a ingestão de alimentação, conforme destaca (CAVALCANTE,2012; SILVA et al., 2019; OLIVEIRA et al., 2015).

No parâmetro de comportamentos e alterações físicas, alguns animais tratados com a Copaíba na dosagem de 1.000 mg/kg, exibiram alterações como ampliação da sensibilidade dérmica, agitação, inquietude, pilo ereção e alguns caso de diarreia. Neste contexto, os achados ratificam os resultados da pesquisa de Lima et al., (2015), que durante a determinação do potencial anti-inflamatório da óleorresina de *Copaifera paupera*, nos testes de aplicação de doses repetidas, evidenciou que a exposição contínua a óleorresina *in natura* da espécie C., pode gerar irritação na pele, não corrosiva, podendo ser mediada através da suspensão da substância. Sachetti (2010), explana que a piloereção e a diarreia, podem ser resultantes do stress imposto aos animais no decorrer do processo de manipulação.

Outrossim, nos roedores tratados com 1/4 e 1/8 da dose máxima permitida pelo protocolo, não foram observadas alterações na pele, olhos e mucosas, aparelho

respiratório, circulatório, autônomo e sistema nervoso central, sinais de tremores, convulsão, salivação, diarreia, letargia, sono, coma, alteração na atividade locomotora e comportamental. Somando assim, as pesquisas de Carvalho (2005), que utilizou a óleorresina *in natura* da espécie *C. duckei* por um período de 7 dias em ratos e nos seus resultados não houve irritação na pele e sinais de processo inflamatório localizado, que pudesse ter relação com o uso do óleo.

Lima (2014), realizou experimento com a óleorresina da espécie *C. duckei*, em sua forma *in natura* (40 mg/kg) por 22 dias consecutivos, por meio da via vaginal, e seus resultados demonstraram a ausência de sinais de irritação na mucosa. Do mesmo modo, Brito et al. (2006), administrou por 14 dias a óleorresina de *C. officinalis* em sua forma pura sobre o membro posterior de ratos, e concluiu a inexistência de irritação ou lesão na pele dos animais.

Em referência aos resultados da necropsia macroscópica, não foram observados indicativos de alterações significativas que pudessem ratificar toxicidade quando comparados ao grupo controle, tal como, os órgãos fígado, rins e testículos, que tiveram seus pesos analisados, não apresentaram indícios de alterações para este parâmetro. Sachetti (2010), analisou os órgãos como rins, fígado e cérebro de ratas durante a “avaliação toxicológica do óleo-resina de copaíba em ratos: estudos de toxicidade aguda, neurotoxicidade e embriofetotoxicidade”, e não identificou alterações significantes.

Quanto aos parâmetros bioquímicos, a análise relevou a existência de nenhuma alteração estatisticamente significativa nos grupos testados. Lima (2014), observou durante o tratamento subcrônico com o óleorresina de *C. duckei*, administrado via oral, que houve alterações na dosagem de determinados parâmetros bioquímicos nas ratas (colesterol total), que estiveram mais altos, quando correlacionados ao grupo controle. Além disso, o autor demonstrou em seus resultados a ocorrência da redução da glicemia, e aumento significativo, dos níveis séricos de creatinina, em machos e fêmeas respectivamente do grupo tratado.

Na avaliação dos parâmetros hematológicos, contataram-se alterações no número de leucócitos, apenas em animais do sexo masculino, dos animais tratados com Copaíba 1000 mg/kg. De acordo com Lima (2014), o uso via oral óleorresina de *C.* não originou interferências tanto em machos quanto em fêmeas, considerando que os parâmetros sanguíneos se mantiveram dentro da faixa de normalidade, com

exceção das plaquetas das fêmeas tratadas. Segundo o mesmo estudo do referido autor, a utilização subcrônica do CVORCD (creme vaginal do óleo-resina de *C. duckei*), alterou parâmetros como a hemoglobina, hematócrito e linfócitos.

7 CONCLUSÃO

Através dos resultados alcançados e em meio às condições experimentais empregadas e a análise destes correlacionada com a literatura científica, foi possível concluir que o óleo-resina de *Copaifera reticulata* não apresentou toxicidade nas doses testadas neste estudo, considerando que o experimento com o óleo-resina, para avaliação da toxicidade oral aguda, toxicidade dérmica aguda e toxicidade dérmica em doses repetidas, não evidenciou-se sinais clínicos de toxicidade, não havendo ocorrência de registro de óbito, somando a inexistência de alterações significativas nos parâmetros avaliados na pesquisa. Para tanto, faz-se necessário o desenvolvimento de novos estudos com espécies diferentes de óleo-resina de *Copaifera*.

REFERÊNCIAS

ABREU, L. de PS; MARTINAZZO, A. P. **A busca pelo uso de produtos naturais na prevenção de infecção por Covid-19**. Revista Brasileira de Desenvolvimento, [S. l.], v. 7, n. 4, pág. 41613–41650, 2021. DOI: 10.34117/bjdv7n4-565. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/ojs/index.php/BRJD/article/view/28750>. Acesso em: 12 out. 2022.

AGÊNCIA IBGE NOTÍCIAS. PNS 2019: **Sete em cada dez pessoas que procuram o mesmo serviço de saúde vão à rede pública**. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/28793-pns-2019-sete-em-cada-dez-pessoas-que-procuram-o-mesmo-servico-de-saude-va-o-a-rede-publica>. Acesso em: 19 out. 2022.

ALMEIDA et al. **Uma breve história da química brasileira**. Cien. Culto. , São Paulo, v. 63, n. 1, pág. 41-44, janeiro de 2011 . Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252011000100015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 20 out. 2022. <http://dx.doi.org/10.21800/S0009-67252011000100015>.

ALVIM N. A. T. et al. **The use of medicinal plants as a therapeutical resource: from the influences of the professional formation to the ethical and legal implications of its applicability as an extension of nursing care practice**. Revista Latino-Americana de Enfermagem [online]. 2006, v. 14, n. 3 pp. 316-323. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0104-11692006000300003>>. Epub 10 Jul 2006. ISSN 1518-8345. <https://doi.org/10.1590/S0104-11692006000300003>. Acesso em: 19 set. 2022.

AMÉRICO ÁVLdS, NUNES K.M, ASSIS FFVd, Dias SR, Passos CTS, Morini AC, Araújo JAd, Castro KCF, Silva SKRd. Barata LES and Minervino AHH (2020) **Efficacy of Phytopharmaceuticals From the Amazonian Plant Libidibia ferrea for Wound Healing in Dogs**. Front. Vet. Sci. 7:244. doi: 10.3389/fvets.2020.00244.

ANVISA. **Guia para a Condução de Estudos Não Clínicos de Toxicologia e Segurança Farmacológica Necessários ao Desenvolvimento de Medicamentos**. Gerência de Avaliação de Segurança e Eficácia – GESEF., Brasília, 31 de janeiro de 2013 – Versão 2. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/medicamentos/pesquisa-clinica/manuais-e-guias/guia-para-a-conducao-de-estudos-nao-clinicos-de-toxicologia-e-seguranca-farmacologica-necessarios-ao-desenvolvimento-de-medicamentos-versao-2.pdf/view>. Acesso em: 19 set. 2022.

ANVISA. Instrução normativa nº 5 de 11 de dezembro de 2008: **Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado**. 2008.

BARDAJÍ, Danae Kala Rodríguez et al. **Copaifera reticulata oleoresin: chemical characterization and antibacterial properties against oral pathogens**. Anaerobe,

v. 40, p. 18-27, 2016. Disponível em:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/>. Acesso em: 05 out. 2022.

BRASIL, Conselho Federal de Farmácia. Resolução CFF nº 586, de 29 de Agosto de 2013. **Regula a prescrição Farmacêutica e dá outras providências**. Diário Oficial da União, v. 29, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Memento Fitoterápico da Farmacopeia Brasileira**. Brasília: ANVISA, 2016.

BRASIL. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. **Aprova Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 22 jun. 2006. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2006/Decreto/D5813.htm. Acesso em: 02 out. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Medicamentos Fitoterápicos e Plantas Medicinais**. Dados 2020. Disponível em <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/medicamentos/fitoterapicos>. Acesso em: 22 set. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução no. 90 de 16 de março de 2004. **Dispõe sobre o Guia para os estudos de toxicidade de medicamentos fitoterápicos**. DOU. Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria-Executiva. Secretaria de Atenção à Saúde. Glossário temático: **práticas integrativas e complementares em saúde** / Ministério da Saúde, Secretaria-Executiva, Secretaria de Atenção à Saúde. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 180 p. Disponível em: http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/glossario_pics.pdf. Acesso em: 21 out 2022.

BRASIL. Portaria GM/MS nº 971 de 3 de maio de 2006. **Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde**. Diário Oficial da União, Brasília, 03 de mai. 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2006/prt0971_03_05_2006.html. Acesso em: 21 out. 2022.

BRASIL. RDC nº477, de 28 de maio de 2008. **Dispõe sobre as atribuições do farmacêutico no âmbito das plantas medicinais e fitoterápicos e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de jun. 2008. Disponível em: https://fitoterapiabrasil.com.br/sites/default/files/legislacao/re_477_2008.pdf. Acesso em: 18 out. 2022.

BRASILEIRO, Beatriz Gonçalves et al. **Medicinal plants used by the population assisted by the "Programa de Saúde da Família"** (Family Health Program) in Governador Valadares County - MG, Brazil. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas [online]. 2008, v. 44, n. 4 pp. 629-636. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000400009>>. Epub 27 Jan 2009. ISSN

1516-9332. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000400009>. Acesso em: 05 out. 2022.

BRITO, Marcus Vinicius Henriques et al. **Efeito dos óleos de andiroba e copaíba na miosite induzida em ratos**. Revista Paraense de Medicina, v. 20, n. 2, p. 17-24, 2006. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?pid=S010159072006000200004&script=sci_abstract. Acesso em: 05 out. 2022.

Calixto, J. B. (2003). **Biodiversidade como fonte de medicamentos**. Ciência e cultura, 55(3), 37-39.

CALIXTO, J. B.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. M. **Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: desafios**. Gazeta Médica da Bahia. Bahia, v.78, suplemento 1, p.98- 106, 2008.

CAMPOS, S. C. et al. **Toxicidade de espécies vegetais**. Revista Brasileira de plantas medicinais, v. 18, p. 373-382, 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbpm/a/LYfYqbbr4vBXqGXfxxcqZqt/abstract/?lang=pt>> Acesso em: 01 out. 2022

CARDOSO, Miqueias Correa Da Silva et al. **Estudo teórico da avaliação do potencial anti-inflamatório e cicatrizante do óleo de copaíba, *Copaifera sp.*** 2011. Disponível em: <https://repositorio.unifaema.edu.br/handle/123456789/2652>. Acesso em: 15 out. 2022.

CAVALCANTI, Luiz Carlos. **Avaliação comparada da química dos óleos essenciais da óleoresina de copaíba (*Copaifera langsdorffii* Desf.) e da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolia* Raddi)**. 2012. Tese de Doutorado. brasil. Disponível em: <https://repositorio.uvv.br/handle/123456789/694>. Acesso em: 15 set. 2022.

CORDEIRO, Jonas Gebara Muraro Serrate. **Produção de óleo-resina de copaíba em áreas de exploração de bauxita e sua importância para comunidades quilombolas da região do Rio Trombetas-PA**. 2013. Disponível em: <https://repositorio.inpa.gov.br/handle/1/5085>. Acesso em: 15 set. 2022.

COSTA, Reinaldo Corrêa; NUNEZ, Cecília Veronica. Mercado de bioprodutos fitoterápicos e fitocosméticos: gestão, tecnologias e inovação. Revista Fitos, [S.l.], v. 10, n. 3, p. 295-306, fev. 2017.

DE LIMA, Milena Campelo Freitas et al. **Quantificação do-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. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/ojs/index.php/BRJD/article/view/5898>. Acesso em: 05 set. 2022.

DUARTE, Marta Cristina Teixeira. **Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil**. Revista MultiCiência, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

FERNANDES, TM. **A ciência nas plantas medicinais: temas e sujeitos do debate atual**. In: **Plantas medicinais: memória da ciência no Brasil [online]**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2004, pp. 161-220. ISBN 978-85-7541-348-7. Available from SciELO Books.

FERREIRA, L. S. et al. **Caracterização de óleos e resinas vegetais da Amazônia por espectroscopia de absorção**. Scientia Plena, v. 13, n. 1, p. 012704, 2017.

_____. **Caracterização do óleo-resina de Copaíba (*Copaifera reticulata*) coletado sazonalmente na Floresta Nacional do Tapajós, Pará, Brasil. 2016**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Oeste do Pará. Disponível em: <https://repositorio.ufopa.edu.br/jspui/handle/123456789/172>. Acesso em: 10 out. 2022.

FISCHBORN A. F., MACHADO J., FAGUNDES N.C., PEREIRA N. M. **A política das práticas integrativas e complementares do sus: o relato de experiência sobre a implementação em uma unidade de ensino e serviço de saúde**. Revista do Departamento de Educação Física e Saúde e do Mestrado em Promoção da Saúde da Universidade de Santa Cruz do Sul / Cinergis, Santa Cruz do Sul, v. 17 (2016): SUPLEMENTO - II Congresso Brasileiro Interdisciplinar de Promoção da Saúde 17(4 Supl.1):358-363, out./dez. 2016 ISSN: 2177-4005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.17058/cinergis.v17i0.8149> Acesso em: 10 out. 2022.

FROTA, Jhêssica Krhistine Caetano et al. **Avaliação química e atividade antitumoral in vitro do óleo-resina de *Copaifera reticulata* Ducke**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Oeste do Pará. Disponível em: <https://repositorio.ufopa.edu.br/jspui/handle/123456789/454>. Acesso em: 12 out. 2022.

GADELHA C. S.; JUNIOR V. M. P.; BEZERRA K. K. S.; PEREIRA B. B. M.; MARACAJÁ P. B., **Estudo bibliográfico sobre o uso das plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil**. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável- Revisão Bibliográfica. Revista Verde (Mossoró – RN), v. 8, n. 5, p. 208 - 212, (Edição Especial) dezembro, 2013.

GARCIA, Rosângela Fernandes; YAMAGUCHI, Miriam Harumi. **Óleo de copaíba e suas propriedades medicinais: revisão bibliográfica**. Saúde e Pesquisa, v. 5, n. 1, 2012. Disponível em: <http://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/2082>. Acesso em: 13 out. 2022.

GUARINO, E. et al. **Adaptação ao modelo tradicional de extração de óleo-resina da copaíba**. 2016.

GONÇALVES R. N.; GONÇALVES J. R. S. N.; BUFFON M. C. M.; NEGRELLE R. R. B.; MAZZA V. A., **Os marcos legais das políticas públicas de plantas medicinais**

e fitoterápicos no Brasil. Rev. APS, jul./set. 2020; 23 (3): 597 – 622. Disponível em:<https://doi.org/10.34019/1809-8363.2020.v23.16610> Acesso em: 22 out. 2022.

GONÇALVES, Eduardo da Silva. **Avaliação da segurança de uso do óleo de Copaifera multijuga Hayne (Fabaceae).** 2014. Disponível em:<https://attena.ufpe.br/handle/123456789/11946> Acesso em: 21 out. 2022.

HECK, Michele Cristina; VIANA, Lilian Ávila; VICENTINI, Veronica Elisa Pimenta. **Importância do óleo de Copaifera sp.(Copaíba).** SaBios-Revista de Saúde e Biologia, v. 7, n. 1, 2012. Disponível em:<https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/992>. Acesso em: 10 set. 2022.

JUNIOR, Valdir Ferreira De Paula. **Copaifera reticulata e seu composto majoritário-cariofileno: efeito antiproliferativo in vitro sobre leishmania infantum, toxicidade e modelagem computacional.** 2018. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vtt-217299>. Acesso em: 10 out. 2022.

LIMA, C. S. **Estudo da toxidade não clínico em ratos submetidos ao tratamento com óleo-resina de Copaifera duckei dwyer (subcrônico e reprodutivo).** 2014. Tese de Doutorado. Tese (doutorado)–Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical,--Macapá, 265 f.

LIMA, Helen Soares. **Potencial anti-inflamatório da óleorresina de Copaifera paupera (Herzog) Dwyer - Leguminosae.** 2015. 82 p. Dissertação de Mestrado em Biociências. Programa de Pós Graduação em Biociências. Universidade Federal do Oeste do Pará – UFOPA, Santarém, 2015.

LIMA, Tamyres Carla Porteglio et al. **Desenvolvimento de nanogel de copaifera reticulata sobre a lesão muscular em ratos usando fonoforese.** Saúde e Pesquisa, v. 13, n. 1, 2020.

MACIEL, Maria Aparecida M. et al. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares.** Química Nova [online]. 2002, v. 25, n. 3 pp. 429-438. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300016>>. Epub 07 Ago 2002. ISSN 1678-7064. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300016>. Acesso em: 15 out. 2022.

MENDIETA, Marjoriê da Costa et al. **Plantas tóxicas: importância do conhecimento para realização da educação em saúde.** Rev. enferm. UFPE on line, p. 680-686, 2014. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1033700>. Acesso em: 20. set. 2022. Acesso em: 22 out. 2022.

MONTES, Livia V. et al. **Evidências para o uso da óleo-resina de copaíba na cicatrização de ferida–uma revisão sistemática.** CEP, v. 29102, p. 770, 2009.

MONTEIRO, Ana Raquel Marques. **Produtos a base de plantas dispensados em ervanárias para o emagrecimento: efeitos terapêuticos, toxicologia e legislação.** 2011.

MOURA, Naiara et al. **Ensaio toxicológicos: Um estudo sobre a utilização de testes in vivo e in vitro.** Enciclopédia biosfera, v. 8, n. 15, 2012.

NASCIUTTI P. R. **Desenvolvimento de novos fármacos. Universidade federal de Goiás escola de veterinária e zootecnia/programa de pós-graduação em ciência animal.** GOIÂNIA, 2012. Disponível em: https://files.cercomp.ufg.br/webby/up/67/o/1%C2%B0_Semin%C3%A1rio_PRISCI_LLA_NASCIUTTI.pdf?1350665635 Acesso em: 10 set. 2022.

NETO CFA., Valadares GV., Costa LS., Neto CF, Valadares GV, Costa LS., **Revisão integrativa sobre a saúde da comunidade tradicional: reflexões ecológicas.**, Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 10, n. 1, p. 82-94, Janeiro/Julho. 2020.

OCDE (1981), *Teste nº 410: Toxicidade dérmica de dose repetida: Estudo de 21/28 dias*, Diretrizes da OCDE para testes de produtos químicos, Seção 4, Publicação da OCDE, Paris. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/9789264070745-en>. Acesso em: 10 set. 2022.

OCDE (2002), *Teste No. 423: Toxicidade oral aguda - Método de classe tóxica aguda*, Diretrizes da OCDE para o teste de produtos químicos, Seção 4, Publicação da OECD, Paris. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/9789264071001-en>. Acesso em: 10 out. 2022.

OCDE (2017), *Teste No. 402: Toxicidade Dérmica Aguda*, Diretrizes da OECD para Testes de Produtos Químicos, Seção 4, Publicação da OECD, Paris. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/9789264070585-en>. Acesso em: 22 out. 2022.

OGA, Seizi; CAMARGO, Márcia Maria de Almeida; BATISTUZZO, José Antonio de Oliveira. **Fundamentos de toxicologia.** 2008.

OLIVEIRA, Elaine Cristina Pacheco de et al. **Potencial anti-inflamatório da óleoresina de Copaifera paupera (Herzog) Dwyer-Leguminosae.** 2015. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Oeste do Pará. Disponível em: <https://repositorio.ufopa.edu.br/jspui/handle/123456789/411>. Acesso em: 10 out. 2022.

PACHECO, Carolina Carvalho et al. **Desenvolvimento de nanocápsulas contendo óleo de Copaifera reticulata Ducke.** 2014. Disponível em: <https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/4768>. Acesso em: 22 out. 2022.

PARENTE, Leila Maria Leal et al. **Óleo de copaíba: características farmacológicas e atividade antiinflamatória.** 2015. Disponível em: https://projetos.extras.ufg.br/conpeex/2006/porta_arquivos/posgraduacao/21451131-LeilaMariaLealParente.pdf Acesso em: 04 out. 2022.

PEREIRA, M. C.; DEFANI, M. A. **Plantas medicinais: Modificando conceitos.** Disponível em: < <http://www.diaadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/284-4.pdf>>. Acesso em: 22/10/2022.

PIERI, F.A., MUSSI, M.C. e MOREIRA, M.A.S. **Óleo de copaíba (Copaifera sp.): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais [online]. 2009, v. 11, n. 4 pp. 465-472. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400016>>. Epub 02 Mar 2011. ISSN 1983-084X. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722009000400016>. Acesso em: 10 out. 2022.

PINTO, A. C. et al. **Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas.** Química Nova [online]. 2002, v. 25, suppl pp. 45-61. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>>. Epub 13 Nov 2003. ISSN 1678-7064. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000800009>. Acesso em: 22 set. 2022.

RIGAMONTE-AZEVEDO, ONOFRA CLEUZA RIGAMONTE-AZEVEDO et al. **Variabilidade química e física do óleo-resina de Copaifera spp. no sudoeste da Amazônia brasileira.** Revista brasileira de oleaginosas e fibrosas, v. 8, n. 2-3, 2004.

RIO, Ricardo Gomide Woisky do; SERTIÉ, Jayme Antonio Aboin. **Atividade antiinflamatória, toxicidade e aspectos químicos do óleo-resina de copaíba, proveniente de diferentes espécies, e de suas respectivas frações.** 2001. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001189828>. Acesso em: 10 set. 2022.

ROCHA, C. A. M. da; RABELO, N. L. F.; RODRIGUES, A. M.; ROCHA, S. M. da; REIS, H. S. dos. **Prospecção Científica e Tecnológica do Ácido Caurenico, um Diterpeno Bioativo.** Cadernos de Prospecção, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 256, 2020. DOI: 10.9771/cp.v13i1.32202. Disponível em: <https://periodicos.ufba.br/index.php/nit/article/view/32202>. Acesso em: 18 jun. 2022.

RODRIGUES, T. A.; LEANDRO NETO, J.; CARVALHO, T. A. R.; BARBOSA, M. E.; GUEDES, J. C.; CARVALHO, A. V.. **A valorização das plantas medicinais como alternativa à saúde: um estudo etnobotânico.** Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais, v.11, n.1, p.411-428, 2020. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2020.001.0037>. Acesso em: 10 set. 2022.

SACHETTI CG, de CARVALHO RR, Paumgartten FJR et al. **Developmental toxicity of copaiba tree (Copaifera reticulata Ducke, Fabaceae) oleoresin in rat.** Food Chem Toxicol 49:1080–1085. 2011.

SACHETTI, C. G. et al. **Avaliação da toxicidade aguda e potencial neurotóxico do óleo-resina de copaíba (Copaifera reticulata Ducke, Fabaceae).** Revista Brasileira de Farmacognosia [online]. 2009, v. 19, n. 4 , pp. 937-941. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600025>>. Epub 19 Maio 2010. ISSN 1981-528X. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000600025>. Acesso em: 19 set. 2022.

SACHETTI, Camile Giaretta. **Avaliação toxicológica do óleo-resina de copaíba em ratos: estudos de toxidade aguda, neurotoxicidade e embriofetotoxicidade.** 2010.

SAMPAIO, Marina Carvalho. **Nanoemulsões de óleo de copaíba: desenvolvimento e análise de sua atividade anti-inflamatória**. 2022. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/44962>. Acesso em: 22 set. 2022.

SANTOS, D. G. et al. **Copaifera reticulata: caracterização química e atividade bactericida frente a patógenos de alimentos**. 2020. Disponível em: <http://static.sites.sbgq.org.br/rvq.sbgq.org.br/pdf/v12n2a17.pdf>. Acesso em: 10 set. 2022.

SILVA, Aldir et al. **Influência do óleo de copaíba (copaifera sp.) no tratamento de ferida cutânea infeccionada**. Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online, 2010. Disponível em: <http://seer.unirio.br/index.php/cuidadofundamental/article/view/976>. Acesso em: 22 out. 2022.

SILVEIRA, Elielson Rodrigo; CARVALHO, Juliana Cajado Souza; MATOS, Tamara Machado. Da planta ao fármaco: uma abordagem fitoquímica. **Laboratório de Fisiologia Vegetal**, p. 166, 2021.

SILVA, Ederly Santos et al. **Análise físico-química do óleo-resina e variabilidade genética de copaíba na Floresta Nacional do Tapajós**. Pesquisa agropecuária brasileira, v. 47, p. 1621-1628, 2012.

SILVA, Hilris et al. **Sistemas nanoestruturados estabilizados com álcool cetílico etoxilado e propoxilado contendo óleo de copaíba e fluconazol potencialmente ativo contra dermatomicoses**. 2011. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/102460>. Acesso em: 23 out. 2022.

SILVA, Marcos Túlio da et al. **Caracterização físico-química dos óleos-resinas de copaifera multijuga hayne e avaliação da variabilidade química de sua fração volátil**. 2016. Disponível em: <https://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/5731>. Acesso em: 27 out. 2022.

SILVA, Paulo Rodrigo Oliveira da et al. **Efeitos neuroprotetores e anti-inflamatórios do óleo de copaíba (Copaifera reticulata Ducke) em ratos adultos submetidos a isquemia do córtex motor por microinfecções de Edotelina-1**. 2019.

SINITOX (**Sistema Nacional de Informações Tóxico Farmacológicas**) [online]. Registros de Intoxicações/ dados nacionais/ 2013 a 2017 Disponível em: <https://sinitox.iciict.fiocruz.br/>. Acesso em: 05 out.2022.

SOARES, A. J. S. et al. **Potencialidades da prática da atenção farmacêutica no uso de fitoterápicos e plantas medicinais**. Journal Of Applied Pharmaceutical Sciences,[SL], v. 7, n. 2, p. 10-21, 2021.

TRIVELLA D. B. B., BRUDER M. C. P., OLIVEIRA F. C. B., PORCARO R. et al. **Descoberta de fármacos a partir de produtos naturais e a abordagem Molecular Power House (MPH)**. Revista Fitos. Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 176-192 | e-

ISSN: 2446-4775 | www.revistafitos.far.fiocruz.br | CC-BY 4.0. Disponível em: <https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1346>. Acesso em: 22 set. 2022.

VEIGA JUNIOR, Valdir F.; PINTO, Angelo C. **O gênero *Copaifera* L.** Química nova, v. 25, p. 273-286, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/byypYMgDJj4CnCqkWMbx5Qj/>. Acesso em: 22 out. 2022.

VEIGA Junior, VALDIR Florencio da. **Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população.** Revista Brasileira de Farmacognosia [online]. 2008, v. 18, n. 2 pp. 308-313. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200027>>. Epub 01 Ago 2008. ISSN 1981-528X. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000200027>. Acesso em: 29 out. 2022.

VIEGAS Jr, CLÁUDIO, BOLZANI, Vanderlan da Silva e BARREIRO, Eliezer J. **Os produtos naturais e a química medicinal moderna.** Química Nova [online]. 2006, v. 29, n. 2 pp. 326-337. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>>. Epub 03 Abr 2006. ISSN 1678-7064. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>. Acesso em: 19 out. 2022.

VIEIRA, Marcelo de Sousa. **Use of basal cytotoxicity in vitro in reducing the number of animals tests in the evaluation of acute oral toxicity: a grandisin and its major metabolite as prototypes.** 2009. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde - Medicina) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2009.

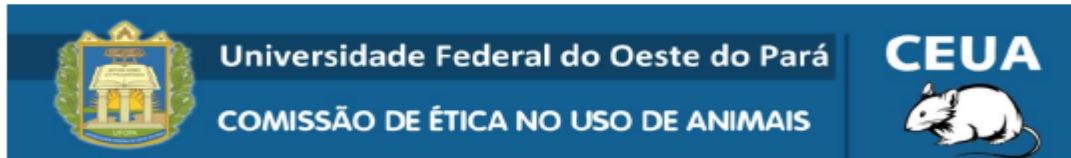
ZIECH, Rosangela E. et al. **Atividade antimicrobiana do óleo-resina de copaíba (*Copaifera reticulata*) frente a *Staphylococcus coagulase positiva* isolados de casos de otite em cães.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 33, p. 909-913, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/WrgXS5q8rrm69JRPwDG9Rjt/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 29 out. 2022.

ANEXOS

ANEXO I – Certificado do Comitê de Ética no Uso de Animais

09/05/2022 12:34

Certificado



CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo N° 0320220198, intitulado **PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE FITOMEDICAMENTO COM BASE NA ANDIROBA, JUCÁ E COPAÍBA**, sob a responsabilidade de Waldiney Pires Moraes, está de acordo com os Princípios éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA.

CERTIFICATE

We certify that the protocol N° 0320220198, entitled "**PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE FITOMEDICAMENTO COM BASE NA ANDIROBA, JUCÁ E COPAÍBA**", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA). This project was approved by the institutional Commission for Ethics in the Use of Animals of Universidade Federal do Oeste do Pará.

Santarém-PA, 09/05/2022

ProP. Dra. Adriana Caroprezzi Morini
Presidente

Verificar a autenticidade do certificado em <http://ufopa.edu.br/ceua/validar-certificado>