

ANÁLISE QUÍMICA QUANTITATIVA PARA A PADRONIZAÇÃO DO ÓLEO DE COPAÍBA POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA DE ALTA RESOLUÇÃO

Marcelo R. R. Tappin, Jislaine F. G. Pereira, Lucilene A. Lima e Antonio C. Siani*

Instituto de Tecnologia em Fármacos, Far-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, R. Sizenando Nabuco, 100, 21041-250 Rio de Janeiro - RJ

José L. Mazzei

Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Tecnologia, Bloco E, Cidade Universitária, 21949-900 Rio de Janeiro - RJ

Mônica F. S. Ramos

Departamento de Medicamentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Centro de Ciências da Saúde, Bloco K, Cidade Universitária, 21910-240 Rio de Janeiro - RJ

Recebido em 10/4/03; aceito em 13/10/03

QUANTITATIVE CHEMICAL ANALYSIS FOR THE STANDARDIZATION OF COPAIBA OIL BY HIGH RESOLUTION GAS CHROMATOGRAPHY. Quantitative GC-FID was evaluated for analysis of methylated copaiba oils, using *trans*-(-)-caryophyllene or methyl copalate as external standards. Analytical curves showed good linearity and reproducibility in terms of correlation coefficients (0.9992 and 0.996, respectively) and relative standard deviation (< 3%). Quantification of sesquiterpenes and diterpenic acids were performed with each standard, separately. When compared with the integrator response normalization, the standardization was statistically similar for the case of methyl copalate, but the response of *trans*-(-)-caryophyllene was statistically ($P < 0.05$) different. This method showed to be suitable for classification and quality control of commercial samples of the oils.

Keywords: Copaifera spp.; high resolution gas chromatography; *trans*-(-)-caryophyllene copalic acid.

INTRODUÇÃO

O gênero arbóreo *Copaifera*, da família Caesalpinaceae, abrange mais de 30 espécies nativas da América Latina, distribuídas entre Honduras e o sul do Brasil^{1,2}. No Brasil é encontrado largamente na região Amazônica, e suas espécies são conhecidas como “copaibeira” ou “pau d’óleo”. A incisão no tronco das árvores fornece o óleo de copaíba, na forma de um óleo-resina de coloração amarela a marrom, que é utilizado industrialmente em vernizes e lacas, na restauração de pinturas antigas, como fixador de odor em fragrâncias³⁻⁵ e como aromatizante em alimentos⁶. Na medicina popular, especialmente na Amazônia brasileira, o óleo de copaíba é utilizado como cicatrizante, anti-inflamatório e anti-séptico, antitumoral, e como agente para tratar bronquites e doenças de pele⁷.

O óleo de copaíba já ocupou o segundo lugar nas exportações brasileiras de drogas medicinais no século passado^{8,9}. Hoje, não há informações suficientes disponíveis sobre a exportação deste óleo. Entretanto é sabido que, após coleta, o óleo é levado até as grandes cidades da Região Amazônica, de onde é exportado diretamente, sendo eventualmente comercializado por laboratórios farmacêuticos brasileiros, especialmente da região Sudeste¹⁰. Os dados mais recentes datam de 1992, quando apontam para uma exportação de cerca de 24 toneladas de óleo para os Estados Unidos e a Europa¹¹.

O óleo natural de copaíba apresenta uma certa variabilidade nos seus componentes, parecendo essa ser mais sensível a fatores bióticos (como insetos e fungos) do que à luminosidade e nutrientes¹². Como produto florestal primário, a exploração do óleo de copaíba apresenta algumas características originárias de seu manejo que vão definir, em última instância, as possibilidades de suas aplicações industriais e, portanto, estabelecer o seu padrão de qualidade para o mercado. A

principal delas refere-se à eventual mistura dos óleos de espécies botânicas variadas, ou ainda de espécimes de idades e locais distintos. Este fato é sobremaneira agravado pela dificuldade de se proceder à diferenciação morfológica entre as espécies, e mesmo pela dificuldade prática em se obter os órgãos florais das espécies, dados o curto período em que ocorrem e a altura das árvores^{13,14}.

Mesmo considerando a exploração racional e a coleta organizada a partir de bolsões florestais contendo, muitas vezes, uma única espécie de copaibeira, para evitar a mistura de óleos de diversas procedências é necessário, ainda, o estabelecimento de procedimentos controlados, desde o momento em que o produto extraído é acondicionado para transporte até sua comercialização. Este é um dos aspectos mais importantes relacionados ao controle de qualidade do insumo bruto extraído e já constitui um dos focos de atenção e iniciativa por parte de algumas cooperativas extrativistas florestais¹⁵.

Esta conjuntura traduz a dificuldade em realizar um controle botânico do produto extrativista vegetal. Como atualmente a indústria não pode prescindir de matéria-prima devidamente qualificada para sua utilização como insumo nos produtos comercializados, é fundamental o estabelecimento de técnicas que permitam um rigoroso controle da qualidade. Também é relevante ressaltar a importância do estabelecimento de uma normatização química quantitativa para os produtos farmacêuticos formulados com óleo de copaíba, auxiliando no estudo da estabilidade físico-química de formulações e fornecendo suporte ao produto final válido em sua eficácia e segurança. Contudo, não se encontram estudos nesta direção, já que a tendência observada, evidenciada em poucos trabalhos interdisciplinares, tem focalizado o monitoramento farmacológico de frações caracterizadas apenas qualitativamente ou de constituintes individuais isolados do óleo de copaíba, como agentes responsáveis pela atividade em questão. Por outro lado, os inúmeros estudos, relatados na literatura convencional ou científica, resultam em conclusões in-

*e-mail: siani@far.fiocruz.br

completas e comumente contraditórias quanto à determinação do agente terapêutico no óleo de copaíba.

Porém, motivados pela pressão regulatória para se desenvolver produtos dentro de estritos padrões sanitários, alguns esforços têm sido despendidos na tentativa de relacionar as diversas atividades farmacológicas do óleo de copaíba com sua constituição química. Há, por exemplo, evidência da correlação entre a atividade antiinflamatória com os óleos que apresentam maiores teores de ácidos diterpênicos em sua composição¹⁶. Por outro lado, as frações ricas em hidrocarbonetos sesquiterpênicos também são reputadas como importantes no efeito antiinflamatório, no entanto com prováveis efeitos sinérgicos¹⁷. A Tabela 1, compilada de dados da literatura, ilustra algumas descrições sobre a composição do óleo e o efeito farmacológico descrito¹⁶⁻²³.

Como agravante, os óleos comerciais de copaíba têm sido sujeitos a adulterações na própria origem, pela mistura com outros óleos²⁴. Um produto para o mercado de fitomedicamentos, com base no óleo de copaíba, portanto, deve garantir a reprodutibilidade da eficácia

dentro do lote utilizado industrialmente. Como os testes de eficácia implicam em um inexequível controle biológico torna-se, portanto, necessário que a este lote seja anexado um laudo sobre a composição química mínima para que o efeito desejado seja mantido. Nesta relação entre perfil químico e ensaios farmacológicos repousa a confiança do consumidor na eficácia do produto. Em todo esse contexto, a caracterização qualitativa e quantitativa dos componentes do óleo de copaíba seria uma ferramenta apropriada à identificação e origem das diferentes espécies botânicas de copaibeiras, podendo ser também modelada para aplicar-se ao controle de qualidade dos óleos ainda no estágio inicial de comercialização.

O presente trabalho visa estabelecer um método para a padronização química quantitativa do óleo de copaíba, por intermédio da normalização externa em cromatografia em fase gasosa de alta resolução com detecção por ionização em chama (CGAR-DIC), usando o *trans*-(-)-cariofileno e/ou ácido copálico como padrão de referência e aplicando a metodologia desenvolvida em amostras do mercado.

Tabela 1. Ilustração da relação entre atividades farmacológicas e constituições químicas do óleo de copaíba descritas na literatura

Espécie	Certificação botânica	Atividade farmacológica	Modelo farmacológico (Dose)	Frações, substâncias caracterizadas/isoladas	Resultado / Referências
Vários espécimens	Não efetuada	Antiinflamatória	(i) edema de pata/carragenina (0,70-2,69 mL/kg) (ii) granulona (doses repetidas, 6 dias 1,26 mL/kg) (iii) permeabilidade vascular/histamina	β -cariofileno, β -cubebeno, β -bisaboleno, outros	(30-40% eficácia); DL ₅₀ 3,79 mL/kg (18)
8 amostras comerciais	-	Antiinflamatória	(i) edema de pata/carragenina (30 mg/kg) (ii) edema de pata/bradicinina (30 mg/kg)	β -bergamopteno, β -cariofileno, α -aromadendrenos nas frações ativas	Inibições: 14-56% em (i) e 37-62% em (ii) (17)
-	-	Analgésica	(i) contorção abdominal por ácido acético (ii) difusão peritonial de azul de Evans	Ácido copálico	Menos potente que indometacina (19)
<i>Copaifera cearencis</i>	Não citada	Antiinflamatória, analgésica	(i) edema de pata/carragenina (500 mg/kg) (ii) contorção abdominal por ácido acético (iii) difusão peritonial de azul de Evans	Não citado (ácido copálico?)	Menos potente que indometacina; dose-dependência observada (16)
<i>Copaifera langsdorffii</i>	Não citada	Antiinflamatória	Edema de orelha/óleo de cróton: modelos oral e tópico	Óleo bruto (OB) e fração volátil (FV)	OB eficaz em aplicação oral; FV eficaz em tópica (20)
<i>Copaifera langsdorffii</i>	Não citada	Antinociceptiva	(i) contorção abdominal por ácido acético (ii) teste da placa quente (200 e 400 mg/kg)	Óleo bruto (OB) e fração volátil (FV)	Inibições (27% e 53%) significantes em (i) (21)
<i>Copaifera langsdorffii</i>	Exsicata 24461, Herb. Prisco Bezerra, UFCE	Efeito gastroprotetor	Lesões gástricas induzidas por etanol, indometacina e estresse hipotérmico (400 mg/kg)	Não há	Eficácia no aumento do suco gástrico (22)
<i>Copaifera langsdorffii</i>	Exsicata 24461, Herb. Prisco Bezerra, UFCE	Cicatrizante	(i) aceleração de cicatrização em feridas abertas (ii) aceleração de cicatrização em incisões	70% diterpenos, sesquiterpenos, ácidos caurenóico e poliáltico	Aceleração até o 9º dia em (i) e até o 5º dia em (ii) (23)

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais e métodos

Reagentes

A solução de diazometano em éter foi obtida a partir de solução de Diazald® (Aldrich, USA). Diclorometano grau P.A. (99,5%, VETEC, Rio de Janeiro). O padrão de *trans*-(-)-cariofileno foi adquirido comercialmente (Sigma-Aldrich, USA), apresentando 99% de pureza e óxido como principal contaminante.

Padrão de ácido copálico

Uma amostra de óleo de copaíba cedida pela empresa Brasmazon (não quantificada neste trabalho) foi submetida exaustivamente ao arraste a vapor. Após secagem completa, 14,0 g do resíduo foram fracionados em coluna de sílica-gel 60, utilizando-se como eluente uma mistura gradiente de metanol em clorofórmio (0, 1, 2, 4, 6, 10 e 20% v/v) e coletando-se frações de 15-20 mL. As frações entre 1 e 4% de metanol foram reunidas, após verificação de similaridade dos sinais em Cromatografia de Camada Fina. 100 mg desta fração foram aplicadas em duas placas preparativas (sílica-gel, 20 x 20 x 0,1 cm; hexano:acetona 95:5 v/v como eluente), resultando em 42 mg de ácido copálico ($R_f = 0,79$). Este foi caracterizado por CGAR-EM, infravermelho e RMN de ^1H e de ^{13}C , estando de acordo com os dados da literatura²⁵. Após tratamento com diazometano, o éster metílico do ácido foi quantificado (95%) por CGAR-DIC.

Soluções padrão

Cinco soluções padrão de *trans*-(-)-cariofileno em diclorometano, variando a concentração de 0,99 a 10,00 mg/mL, foram preparadas e injetadas três vezes nas condições experimentais estabelecidas. Cinco soluções padrão de ácido copálico metilado, com concentrações variando de 0,98 a 9,58 mg/mL, foram preparadas em diclorometano.

Amostras

Foram analisadas 6 amostras comerciais de óleo de copaíba, coletadas em diferentes locais da Região Amazônica ao longo do ano de 1999: BA1 e BA2 (Nova Aripuanã, PA, Baixo Amazonas); TA1 e TA2 (Santarém, PA, Trans-Amazônica); e BP1 e BP2 (Baía do Portel, PA). Os índices 1 e 2 referem-se às coletas efetuadas de abril a julho, e agosto a dezembro, respectivamente. Alíquotas de cada amostra foram pesadas em balão volumétrico. A massa dessas alíquotas variou conforme a amostra, no sentido de se obterem concentrações das principais substâncias dentro da faixa de linearidade da curva analítica. Para a quantificação com o padrão *trans*-(-)-cariofileno, as amostras foram pesadas dentro de duas faixas de massa – ao redor de 40 mg para BA1 e BA2, e ao redor de 160 mg para TA1, TA2, BP1 e BP2 – sendo todas dissolvidas em 2,0 mL de diclorometano. Para a quantificação com o copalato de metila, as faixas de massas utilizadas foram – ao redor de 60 mg para BA1 e BA2, e ao redor de 75 mg para TA1, TA2, BP1 e BP2 – sendo todas dissolvidas em 1,0 mL de diclorometano.

As alíquotas foram então metiladas com diazometano, secas, e subsequentemente dissolvidas em diclorometano, avolumando-se quantitativamente a 2,0 mL. As soluções foram analisadas em triplicata por CGAR-DIC.

Instrumentação

Foi utilizado o cromatógrafo a gás Hewlett-Packard 6890 acoplado ao integrador Hewlett-Packard 3396A, com injetor tipo “split/splitless” (200 °C) com divisão de vazão de 1:20, coluna capilar HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de espessura do filme) e detector por ionização em chama (290 °C). As vazões dos gases foram de

2 mL/min para o hidrogênio como gás de arraste, e de 450, 40 e 50 mL/min para ar, hidrogênio e nitrogênio, respectivamente, no detector. Temperatura inicial de 110 °C, 2 min de isoterma, seguida de taxa de aquecimento de 5 °C/min até 140 °C, então taxa de aquecimento de 20 °C/min até 290 °C. Volume de injeção de 1,0 µL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na metodologia descrita na literatura para CGAR acoplada à espectrometria de massas, diversos óleos de copaíba comerciais foram caracterizados qualitativamente quanto à presença de sesquiterpenos e ácidos diterpênicos²⁶. Nas condições selecionadas, ambos os grupos de substâncias são resolvidos em faixas de retenções específicas e distintas, após metilação. A análise do solvente das amostras por CGAR-DIC, nas condições estabelecidas, não apresentou sinais no cromatograma a partir do tempo de integração estipulado, podendo ser empregado satisfatoriamente para a diluição tanto das soluções padrão quanto das amostras.

Para desenvolvimento do método de análise quantitativo, a padronização interna com substâncias de mesma natureza química implicaria em um número reduzido de análises. No entanto, o cromatograma do óleo de copaíba apresenta-se, em geral, muito complexo quanto ao número de sinais registrados dada a extensa variedade de espécies terpênicas presentes, inviabilizando o emprego do método de padronização interna. Por isso, foi investigada a técnica de padronização externa com um padrão comercial de *trans*-(-)-cariofileno. Este foi selecionado por ser um hidrocarboneto sesquiterpênico de presença ubíqua nas amostras descritas de óleo de copaíba (e também na maioria das misturas voláteis de origem vegetal) e comercialmente disponível como um padrão analítico de elevada pureza. Uma vez que a resposta do detector por ionização em chama é quasi-constante para substâncias de mesma classe, principalmente aquelas de alto peso molecular²⁷, as concentrações de outros sesquiterpenos abundantes também podem ser determinadas por intermédio do uso do *trans*-(-)-cariofileno. O mesmo estudo foi realizado com o padrão de ácido copálico isolado do óleo, com o intuito de comparar os resultados obtidos pelas duas vias de quantificação.

Linearidade e faixa de resposta do padrão

A Tabela 2 apresenta os dados relativos às curvas analíticas para os padrões de sesquiterpeno e do ácido diterpênico metilado, obtidas com triplicatas das injeções das soluções padrão, com o mínimo de cinco concentrações, conforme recomendado por órgãos reguladores²⁸.

Tabela 2. Dados da curva analítica para o *trans*-(-)-cariofileno e o éster metílico do ácido copálico

Curva analítica	<i>trans</i> -(-)-cariofileno	ácido copálico
Coefficiente de correlação	0,9992	0,9967
Coefficiente angular (mV mL mg ⁻¹)	3,73 × 10 ⁶	1,85 × 10 ⁶
Estimativa do desvio-padrão relativo (%)	1,9	2,7
Faixa linear (mg mL ⁻¹)	0,99 - 10,0	0,98 - 9,58
Limite de quantificação (mg mL ⁻¹)	0,99	0,98

Análises realizadas em triplicatas. Os coeficientes lineares não diferiram estatisticamente ($P < 0,05$) de zero.

Dentro da faixa de concentração estudada para os padrões, foi encontrada a faixa linear de resposta do detector, a partir da qual foi estabelecido o limite mínimo em que as substâncias puderam ser quantificadas com exatidão e precisão aceitáveis (Tabela 2).

Visto que os coeficientes lineares das curvas analíticas, tanto para o ácido copálico como para o *trans*-(-)-cariofileno não diferem estatisticamente de zero ($P < 0,05$), a quantificação de sesquiterpenos e diterpenos foi realizada por normalização e comparação direta da respectiva solução padrão com a área do analito em questão.

Métodos de quantificação

Três métodos para quantificação de sesquiterpenos e de ácidos diterpênicos foram avaliados comparativamente: (i) a partir da resposta do integrador (normalização de área de integração), (ii) da curva analítica de *trans*-cariofileno e (iii) da curva analítica de copalato de metila. Este último foi apenas aplicado para ácidos diterpênicos. As quantificações do grupo de sesquiterpenos pelos dois primeiros métodos foram significativamente diferentes ($P < 0,05$) em todas as amostras analisadas. Por exemplo, a quantificação da amostra BA1 resultou em teores de 40 e de 27%, respectivamente, para os dois primeiros métodos. A quantificação de ácidos diterpênicos pelos três métodos resultou em diferença significativa ($P < 0,05$) apenas quando as amostras foram quantificadas a partir da curva analítica de *trans*-(-)-cariofileno. Como exemplo, o teor de ácido copálico em TA2 foi quantificado em 6,0, 5,2 e 3,5% com normalização pela área e a partir das curvas analíticas de copalato de metila e de *trans*-(-)-cariofileno, respectivamente. A diferença significativa de quantificação é bem representada pelos valores muito distintos dos coeficientes angulares das curvas analíticas dos dois padrões (Tabela 2). Esses resultados evidenciam a importância do uso dos dois padrões para a quantificação dos dois grupos de terpenos, mediante o perfil qualitativo do óleo. No entanto, do ponto de vista prático, há que se atentar para a vantagem da disponibilidade do *trans*-(-)-cariofileno como padrão comercializado, ao contrário do ácido copálico e de outros ácidos diterpênicos.

Análise de óleos comerciais

Os cromatogramas das amostras apresentaram sinais nas duas faixas bem características de retenção, segundo as classes de substâncias presentes: sesquiterpênicas e diterpênicas, como usualmente caracterizado em CGAR (Figura 1). As quantificações dos grupos

de terpenos distintos foram realizadas através das respectivas curvas analíticas (Tabela 3). Dada a faixa de concentração de trabalho (relação entre os dois limites em cerca de 10 vezes), nem todas as substâncias detectadas foram quantificadas, sendo priorizadas as substâncias majoritárias de cada grupo de terpenos.

Nas amostras provenientes da região do Baixo Amazonas (BA1 e BA2) predominaram os sesquiterpenos, acrescidos de um teor bastante reduzido de diterpenos ácidos. Nestas amostras foram quantificados apenas o *trans*-(-)-cariofileno e mais uma segunda espécie majoritária, dentre os sesquiterpenos. Os dois diterpenos quantificados alcançaram apenas cerca de 6% do total da composição do óleo.

Tabela 3. Teor dos componentes majoritários do óleo de copaíba nas diferentes amostras

Componentes Tempo de Retenção (min)	Teor das amostras (% em peso de óleo)					
	BA1	BA2	TA1	TA2	BP1	BP2
Sesquiterpenos^a						
8,2 (<i>trans</i> -(-)-cariofileno)	27,0	24,3	- ^b	-	-	-
8,4	7,4	7,4	4,0	4,1	4,2	3,9
9,2	-	-	2,2	2,2	2,3	2,1
9,5	-	-	8,5	8,8	9,4	8,3
10,5	-	-	1,6	1,7	1,7	1,6
10,8	-	-	1,6	1,7	1,7	1,6
12,2	n.d. ^c	n.d.	1,6	1,7	1,7	1,6
Diterpenos^d						
14,1	-	-	-	-	2,3	1,9
14,2	-	-	2,8	2,7	3,0	2,7
14,4 (copalato de metila)	3,7	3,5	5,5	5,2	5,8	5,3
14,5	-	-	10,4	10,0	8,5	10,1
14,6	-	-	1,4	1,4	1,5	1,4
14,7	-	-	3,0	2,9	3,2	2,9
15,2	-	-	3,5	3,4	3,7	3,4
15,8	2,5	2,3	-	-	-	-
Totais	40,6	37,5	46,1	45,8	49,0	46,8

^aA partir da curva analítica do *trans*-(-)-cariofileno; ^bdetectado abaixo do limite de quantificação; ^cnão detectado; ^da partir da curva analítica do éster metílico do ácido copálico.

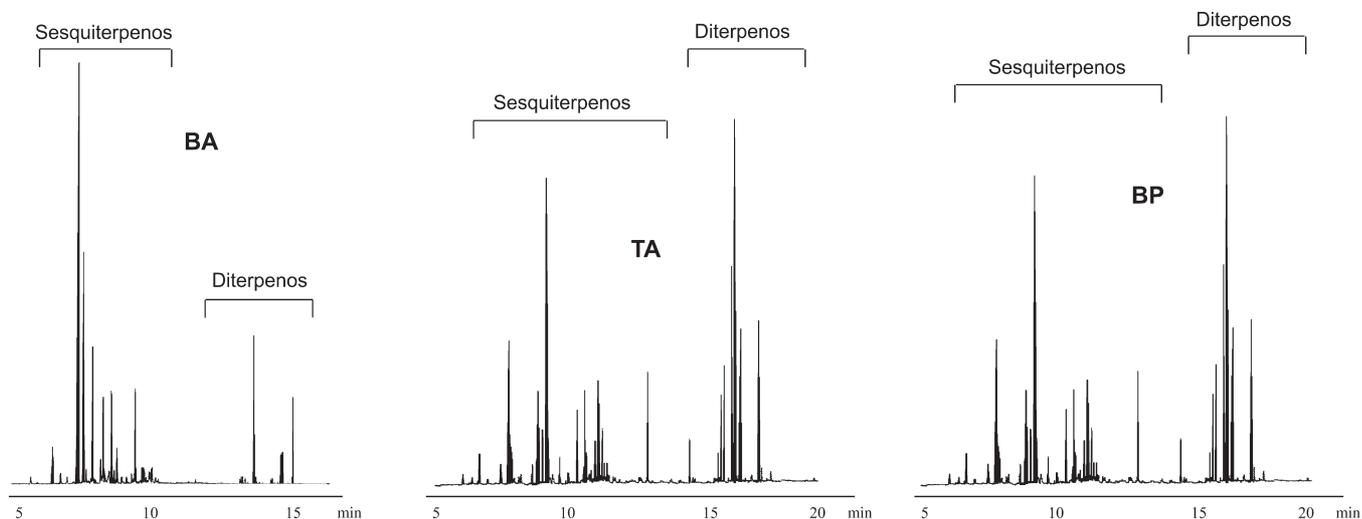


Figura 1. Cromatogramas das amostras de óleo de copaíba de diferentes procedências: Baixo Amazonas (BA), Trans- Amazônica (TA) e Baía do Portel (BP)

Já as amostras da região Trans-Amazônica e da Baía do Portel (TA1, BP1, TA2, BP2) apresentaram composições químicas semelhantes, não apenas pelos teores totais similares dos dois grupos de terpenos, como também dos constituintes individuais presentes nas duas amostras. Nestas amostras, o *trans*-(-)-cariofileno foi detectado abaixo do limite de quantificação, porém outras seis espécies sesquiterpênicas foram passíveis de quantificação. Há uma alta concentração de diversos diterpenos nestas amostras, não sendo nenhum deles predominante (Tabela 3).

Os teores totais dos sinais majoritários de todas as amostras totalizaram pouco menos de 50% da composição do óleo. Este resultado indica a complexidade da composição das amostras de óleo de copaíba quanto às substâncias minoritárias, detectadas, mas de difícil quantificação.

CONCLUSÃO

A faixa linear e a repetibilidade do método de quantificação com a técnica de CGAR-DIC, com padronização externa, permitiram a quantificação de diterpenos e sesquiterpenos em óleos comerciais de copaíba. O padrão de *trans*-(-)-cariofileno mostrou-se adequado para a quantificação do teor de sesquiterpenos totais e, por conseguinte, das amostras de óleo de copaíba onde predominam essas substâncias. Do mesmo modo, o padrão de ácido copálico foi adequado para a quantificação dos diterpenos. Os resultados obtidos neste caso mostraram-se distintos daqueles em que o *trans*-(-)-cariofileno foi aplicado para a quantificação dos diterpenos. Portanto, a utilização dos dois padrões seria aconselhável para a obtenção de resultados quantitativos mais fiéis para os dois grupos de terpenos presentes no óleo. Aplicados às análises de óleos de copaíba comerciais de diferentes procedências, foi possível verificar semelhanças e diferenças quantitativas entre as amostras, em termos das substâncias presentes.

Este trabalho contribui para estabelecer uma ferramenta para as avaliações de controle de qualidade dos óleos de copaíba coletados ou comercializados e para a padronização da composição desta matéria-prima vegetal, em termos de balanceamento químico entre sesqui e diterpenos. A quantificação adiciona uma informação à caracterização cromatográfica convencional, respondendo, em parte, às necessidades que emergem dos estudos interdisciplinares envolvendo a eficácia do óleo de copaíba. O óleo de copaíba provavelmente representa um caso onde o perfil químico total, assim como as caracterizações das espécies presentes são mais importantes do que as substâncias isoladas na determinação das possíveis atividades farmacológicas.

Dentro do aspecto de desenvolvimento de produtos, a metodologia estabelecida pode preencher lacunas nos trabalhos reportados na literatura, no sentido de fornecer base quantitativa aos trabalhos farmacológicos que se apóiam nos diferentes perfis químicos apresentados pelo óleo de copaíba, assim como respalda analiticamente a formulação e os estudos de estabilidade de produtos fitoterápicos contendo este óleo.

Este estudo aponta a perspectiva de se iniciar a certificação química desta matéria-prima vegetal para questões do mercado, em substituição às exigências inexequíveis de certificação botânica, dada a

multiplicidade de ocorrência das espécies, e a inevitável mistura de óleos de espécies diferentes durante as coletas. A resolução deste ponto constitui-se na principal alavanca para a valorização dos produtos da floresta e, portanto, para a agregação apropriada de valor dentro da cadeia que gera produtos industriais a partir deste insumo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa a J. L. Mazzei.

REFERÊNCIAS

- Dwyer, J. D.; *Brittonia* **1951**, *7*, 143.
- Dwyer, J. D.; *Bull. Torrey Bot. Club* **1954**, *81*, 179.
- Rose, A.; Rose, E.; Turner, F. M.; *The Condensed Chemical Dictionary*, 6th ed., Reinhold Publishing: New York, 1961.
- Opdyke, D. L. J.; *Food Chem. Toxicol.* **1973**, *11*, 1075.
- Opdyke, D. L. J.; *Food Chem. Toxicol.* **1976**, *14 Suppl. II*, 687.
- Food Chemicals Codex*, 3^a ed., National Academy Press: Washington, DC, 1996.
- Lewis, W. H.; Elvin-Lewis, P. F.; *Medical Botany – Plants affecting Man's health*, John Wiley & Sons: New York, 1977.
- Simonsen, R. C.; *História econômica do Brasil (1500-1820)*, 2^a ed., Nacional: São Paulo, 1944.
- Arruda, F. F. A.; *O Brasil Colonial*, Ed. Ática, São Paulo, 1980.
- Veiga Jr., V. F.; *Tese de Mestrado*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.
- Gilbert, B. Em *Chemistry of the Amazon*; Seidl, P. R.; Gottlieb, O. R.; Kaplan, M. A. C., eds.; ACS Symposium 558, New York, 1995, cap. III.
- Langenheim, J. H.; *American Scientist* **1990**, *78*, 16.
- Cascon, V.; Gilbert, B.; *Phytochemistry* **2000**, *55*, 773.
- Veiga Jr., V. F.; Pinto, A. C.; *Quim. Nova* **2002**, *25*, 273.
- Leite, A.; Alechandre, A.; Rigamonte-Azevedo, C.; Campos, C. A.; Oliveira, A.; *Recomendações para o manejo sustentável do óleo de copaíba*, UFAC/SEFE: Rio Branco, 2001.
- Fernandes, R. M.; Pereira, N. A.; Paulo, L. G.; *Rev. Bras. Farm.* **1992**, *73*, 53.
- Veiga Jr., V. F.; Zunino, L.; Calixto, J. B.; Patitucci, M. L.; Pinto, A. C.; *Phytoter. Res.* **2001**, *15*, 476.
- Basile, A. C.; Sertie, J. A.; Freitas, P. C. D.; Zanini, A. C.; *J. Ethnopharmacol.* **1988**, *22*, 101.
- Fernandes, R. M.; Pereira, N. A.; *Resumos do Simpósio Brasil-China de Química e Farmacologia de Produtos Naturais*, Rio de Janeiro, Brasil, 1989.
- Paiva, L. A. E.; Santos, F. A.; Rao, V. S. N.; Silveira, E. R.; *Resumos do XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*, Florianópolis, Brasil, 1996.
- Santos, S. P.; Silva, R. M.; Paiva, I. A. E.; Santos, F. A.; Rao, V. S. N.; Silveira, E. R.; *Resumos do XIV Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil*, Florianópolis, Brasil, 1996.
- Paiva, L. A. E.; Santos, F. A.; Rao, V. S. N.; Silveira, E. R.; *J. Ethnopharmacol.* **1998**, *62*, 73.
- Paiva, L. A. E.; Cunha, K. M. A.; Santos, F. A.; Gramosa, N. V.; Silveira, E. R.; Rao, V. S. N.; *Phytoter. Res.* **2002**, *16*, 737.
- Veiga Jr., V. F.; Patitucci, M. L.; Pinto, A. C.; *Quim. Nova* **1997**, *20*, 612.
- Pinto, A. C.; Braga, W. F.; Rezende, C. M.; Garrido, F. M. S.; Veiga Jr., V. F.; Bergter, L.; Patitucci, M. L.; Antunes, O. A. C.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2000**, *11*, 355.
- Patitucci, M. L.; Veiga Jr., V. F.; Pinto, A. C.; Zoghbi, M. G. B.; Silva, J. R. A.; *Quim. Nova* **1995**, *18*, 262.
- McNair, H. M.; Bonelli, E. J.; *Basic Gas Chromatography*, 5^a ed., Varian: Berkeley, 1969.
- www.ich.org/pdf/ICH/Q2B.pdf, acessada em Abril 2003.