

**AÇÃO ANTIFÚNGICA E CINÉTICA DE CRESCIMENTO DE *CANDIDA ALBICANS* FRENTE AO ÓLEO-RESINA DE COPAÍBA DO BIOMA CERRADO, TOCANTINS, BRASIL****ANTIFUNGAL ACTIVITY AND GROWTH KINETICS OF *CANDIDA ALBICANS* EXPOSED TO COPAIBA OIL-RESIN FROM THE CERRADO BIOME, TOCANTINS, BRAZIL****ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA Y CINÉTICA DE CRESCIMIENTO DE *CANDIDA ALBICANS* FRENTE AL ACEITE DE COPAÍBA DEL BIOMA CERRADO, TOCANTINS, BRASIL**

Tamara Rodrigues de Sousa¹; Hugo Diniz Reis²; Bruna Teixeira Vidal³; Rosana Fabrício Gonçalves²; Thallita Rodrigues Bezerra²; Cecília Conopca Lievore⁴; Mirra Angelina Neres da Silva⁵; Talita Pereira de Souza Ferreira⁶; Nelson Luis Gonçalves Dias de Souza⁷; Nelita Gonçalves Faria de Bessa⁸

e768041

<https://doi.org/10.47820/recima21.v7i6.8041>

PUBLICADO: 06/2026

RESUMO

O óleo-resina da espécie vegetal *Copaiba langsdorffii* tem potencial fitoterápico mediante seu uso popular tradicional para tratamento de candidíase vulvovaginal, cujo principal agente etiológico é *Candida* sp. É importante a comprovação científica quanto ao uso seguro e eficaz desta terapêutica, mediante essa espécie de copaibeira já constar na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde – RENISUS, justificando pesquisa com seu ativo biológico. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de Óleo Resina de Copaíba (ORC) extraído de *C. langsdorffii*, Tocantins, bioma Cerrado, frente a *Candida albicans*. O teste de sensibilidade à difusão em disco foi feito usando Nistatina como controle positivo e Tween 80 (1%) como negativo, tendo ORC em concentrações de 100%, 75%, 50% e 25%. Foi avaliada a cinética de crescimento do fungo por espectrofotometria com solução de controle positivo (Tween com Nistatina), 4 concentrações do ORC, com leitura a cada 3 horas no limite de 12h. Os resultados não evidenciaram ORC como antifúngico contra a *C. albicans*, com possível viés metodológico. A Cromatografia Gasosa (GC/MS e GC/FID) elucidou compostos como farnesol, β -cariofileno, α -humuleno, β -bisaboleno e germacreno, sendo biomarcadores importantes. Um achado inédito foi o composto sintético 3-Cloropropionanilida, possível contaminante de herbicida. A busca de alternativas antifúngicas de controle da candidíase permanece um desafio, tanto diante do aumento da resistência microbiana quanto perante ao interesse do SUS, que preconiza qualidade da matéria prima e uso de práticas medicamentosas mediante segurança e eficácia, tais quais plantas medicinais e fitoterápicos.

PALAVRAS-CHAVE: *Copaiba langsdorffii*. Candidíase. Ciências da saúde.

¹ Graduada em Farmácia (UnirG), Mestra em Química (UFT), Doutoranda no Programa de Pós- Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia Rede BIONORTE.

² Médicos (as) Egressos (as) do curso de Medicina da Universidade Pública Municipal de Gurupi-TO – UnirG.

³ Médica egressa da Universidade de Gurupi-TO/UnirG; Residente Médica Ginecologia e Obstetrícia UNIFAP-AM.

⁴ Médica egressa da Universidade de Gurupi-TO/UnirG; Médica Bolsista pelo ICEPi/Qualifica APS.

⁵ Mestre em Química Analítica pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Ocupante do cargo de química na UFMG e de professora na E.E. Professor Affonso Neves, Belo Horizonte-BH.

⁶ Doutora em Biodiversidade e Biotecnologia. Docente do curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da UFT, Campus Gurupi-TO.

⁷ Doutor em Química, Departamento de Química, Docente da Universidade Federal do Tocantins, UFT, Campus de Gurupi-TO.

⁸ Doutora em Biologia e Ecologia Tropical. Docente aposentada do curso de Medicina da Universidade Pública Municipal de Gurupi-TO - UnirG.

**ABSTRACT**

The oil-resin of the *Copaiba langsdorffii* plant species has phytotherapeutic potential through its traditional popular use for treatment of vulvovaginal candidiasis, whose main etiological agent is *Candida* sp. The scientific certification is important regarding the safe and effective use of this therapy, through this copaiba species already listed in the National List of Medicinal Plants of Interest to the Unique Health System - RENISUS, justifying research with biological active ingredient of this species. The objective in this study was to evaluate the *in vitro* antifungal activity of Copaiba Resin Oil (ORC) extracted from *C. langsdorffii*, Tocantins, Cerrado biome, against *Candida albicans*. The disc diffusion sensitivity test was done using Nistatin as a positive control and Tween 80 (1%) as a negative, having ORC at concentrations of 100%, 75%, 50% and 25%. The a growth kinetics of the fungus was evaluated through spectrophotometry with a positive control solution (Tween with Nistatin), 4 ORC concentrations, with readings at every 3 hours within 12 hours. The results did not show ORC as an antifungal against *C. albicans*, with possible methodological bias. Gas chromatography (GC/MS and GC/FID) showed presence of farnesol, β -caryophyllene, α -humulene, β -bisabolene and germacrene as important biomarkers. An unprecedented discovery was the synthetic compound of 3-Chloropropionanilide, a possible herbicide contaminant. The search for antifungal alternatives to control candidiasis remains a relevant challenge both in view of the increase in microbial resistance and the interest of SUS, which advocates the quality of raw materials and the safe drug alternative use. such as medicinal plants and herbal medicines.

KEYWORDS: *Copaiba langsdorffii*. Candidíase. Health Sciences.

RESUMEN

El aceite-resina de la especie vegetal *Copaiba langsdorffii* tiene potencial fitoterápico debido a su uso popular tradicional para el tratamiento de la candidiasis vulvovaginal, cuyo principal agente etiológico es *Candida* sp. Es importante la comprobación científica sobre el uso seguro y eficaz de esta terapia, mediante esa especie de copaibera ya consta en la Relación Nacional de Plantas Medicinales de Interés al Sistema Único de Salud - RENISUS, justificando investigación con activo biológico de esta especie. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antifúngica *in vitro* del Aceite Resina de Copaiba (ORC) extraído de *C. langsdorffii*, Tocantins, bioma Cerrado, frente a *Candida albicans*. La prueba de sensibilidad a la difusión en disco se realizó utilizando Nistatina como control positivo y Tween 80 (1%) como negativo, teniendo ORC en concentraciones del 100%, 75%, 50% y 25%. Se evaluó la cinética de crecimiento del hongo por espectrofotometría con solución de control positivo (Tween con Nistatina), 4 concentraciones del ORC, con lectura cada 3 horas en el límite de 12h. Los resultados no evidenciaron ORC como antifúngico contra la *C. albicans*, con posibles sesgos metodológicos. La cromatografía de gases (GC/MS y GC/FID) mostró la presencia de farnesol, β -cariofileno, α -humuleno, β -bisaboleno y germacreno como biomarcadores importantes. Un hallazgo inédito fue el compuesto sintético 3-Cloropropionanilida, posible contaminante de herbicida. La búsqueda de alternativas antifúngicas de control de la candidiasis sigue siendo un desafío relevante tanto frente al aumento de la resistencia microbiana como ante el interés del SUS, que preconiza la calidad de la materia prima y uso de alternativas medicamentosas con seguridad, tales como plantas medicinales y fitoterapéuticos.

PALABRAS CLAVE: *Copaiba langsdorffii*. Candidiasis. Ciencias de la salud.



1. INTRODUÇÃO

Os óleos extraídos de plantas nativas são produtos complexos obtidos a partir de diversas partes da planta, sendo amplamente utilizados em áreas da perfumaria e cosmética, devido ao seu aroma, e como recurso medicinal tradicional popular devido às suas propriedades (BERNARDO *et al.*; 2025; BIZZO *et al.*; 2009; VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002). São amplos os potenciais de uso como fitoterápico, devido aos seus metabólitos secundários enquanto compostos biologicamente ativos. Estes podem ser capazes de agir desde a inibição do crescimento dos microrganismos até mesmo sua ação destrutiva, apontado como alternativa de tratamento em casos de microrganismos resistentes às medicações convencionais (CHAMI *et al.*, 2004; MONDELLO *et al.*, 2003).

O Óleo de Resina de Copaíba (ORC), como é conhecido na sua forma bruta, encontra-se majoritariamente no tronco da copaibeira, conferindo grande reservatório de óleo medicinal o que, popularmente, leva a planta ser conhecida como pau-d'óleo. Dentre as muitas espécies de copaíba destaca-se o interesse pela *Copaifera langsdorffii*. Trata-se de uma espécie endêmica do Brasil e muito presente nos biomas Amazônico e Cerrado, sendo arbórea nativa cuja altura varia entre 20 e 40m (SILVA *et al.*; 2025; VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002).

A composição química deste ORC se dá por duas classes de compostos metabólitos secundários, sendo uma fração sólida não volátil contendo os sesquiterpenos e ácidos diterpênicos (55-60% do óleo) e outra fração volátil, composta por hidrocarbonetos sesquiterpenos e sesquiterpenos oxigenados, e cujas presença e proporção podem diferir qualitativa e quantitativamente de acordo com a espécie e condições edafoclimáticas (BERNARDO *et al.*; 2025; VEIGA-JÚNIOR; PINTO; 2002) e método analítico utilizado (GALUCIO *et al.*; 2016). A este óleo nesta forma bruta e natural tem-se atribuído ações anti-inflamatória, antimicrobiana, cicatrizante, úlceras e feridas em geral, cuja extração se dá por meio da perfuração no tronco da copaibeira (LIMA *et al.*, 2020; VEIGA-JUNIOR; PINTO, 2002).

As potencialidades do ORC voltadas às aplicações tanto na prevenção como no tratamento de enfermidades, nos mais diversos sistemas orgânicos, justificam incentivos às pesquisas científicas visando a ampliação da utilização da espécie *C. langsdorffii* pela população brasileira, perspectivas de novos medicamentos fitoterápicos e ampliação do acesso dos seus benefícios à população em geral (ZAMBONIN *et al.*; 2019). Contudo, para que tal ativo natural seja utilizado com eficácia e segurança são necessárias comprovações científicas abordando sobre toxicidade, composição fitoquímica, atividade antimicrobiana e mecanismo de ação, dentre outros atributos, o que requer o desenvolvimento de pesquisas com resultados em tecnologias e terapêuticas apropriadas, conforme preconiza a Política e Programa Nacional de Plantas



Medicinais e Fitoterápicos (BRASIL, 2016). A espécie *C. langsdorffii* encontra-se inclusa na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde – RENISUS.

A farmacodinâmica de um ativo natural, como ORC, se dá a partir da ação sinérgica de seus metabólitos secundários, que são os princípios ativos responsáveis pela ação biológica da planta em resposta, por exemplo, a submissão de agentes antimicrobianos. Isto por que tais agentes atuam desestabilizando e rompendo a membrana lipídica do fungo, como *Candida albicans*, causando destruição celular e conseqüente resposta pela atividade antifúngica, evidenciada pela inibição de crescimento (ZAMBONIN *et al.*, 2019). Este é o mecanismo de ação esperado com estudos *in vitro* ao testar ativos naturais frente a patógenos de interesse para saúde. Desta forma, tem-se contribuições científicas a fim de evidenciar efeitos terapêuticos, segurança e eficácia de uso em tratamentos de diversas patologias, com ativos advindos do conhecimento tradicional, além de subsidiar o controle de qualidade de matérias primas e a produção de fitoterápicos.

A atividade biológica de óleos de copaibeiras já foi confirmada em estudos anteriores, cujas evidências são mais centradas em bactérias multirresistentes (LIMA *et al.*; 2020; ABRÃO *et al.*, 2015) e poucos envolvem patologias comuns da assistência primária na saúde da mulher, a exemplo de vulvovaginoses, podendo decorrer de infecção fúngica por *Candida* sp. O uso e o conhecimento da ação medicinal do óleo de copaíba remontam de práticas indígenas e de médicos da época colonial do Brasil (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2010). Em estudos *in vitro* foi constatada a ação antimicrobiana de ORC, comprovando o seu efeito inibitório na adesão da cepa do fungo do gênero *Candida* (DEUS; ALVES; ARRUDA *et al.*, 2011), porém, são raros os estudos que visam subsidiar alternativas fitoterápicas para tratamento de candidíase vulvovaginal (REIS; BESSA *et al.*; 2023).

As espécies do gênero *Candida* conferem um total de 150 na atualidade e cerca de 20 são capazes de causar infecções em humanos, sendo esta a décima causa das septicemias em geral no mundo e mais comum em adultos e crianças (MACIAS-PAZ *et al.*; 2023; RODRIGUES *et al.*; 2023). O principal agente etiológico da candidíase é *C. albicans*, sendo a prevalência desta infecção fúngica recentemente constatada, inclusive, em mulheres estudantes de medicina de região sul do Brasil (PEREIRA; POSSOBON, 2023). Por outro lado, esse microrganismo tem se tornado cada vez mais difícil de controlar devido ao desenvolvimento de resistência aos tratamentos convencionais.

A *C. albicans* faz parte da microbiota residente do ser humano, sendo encontrada, em condições normais, em locais como a cavidade oral, esôfago e vagina, sem causar danos ao hospedeiro. No entanto, em situações de desequilíbrio ou em indivíduos imunossuprimidos, pode



ocorrer sua proliferação excessiva, levando ao desenvolvimento da candidíase. Entre suas formas clínicas, a candidíase vulvovaginal destaca-se como uma das mais frequentes na área da ginecologia e cujos sintomas são pruridos intenso, leucorreia e desconforto durante as relações sexuais, provocando impactos significativos na qualidade de vida das pacientes (LINHARES *et al.*; 2018).

Do exposto, o presente estudo objetivou avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de Óleo de Resina de Copaíba (ORC) frente à cepa de *C. albicans*. Para tanto, aplicou-se o teste de difusão em disco pelo método de Bauer-Kirby seguido da verificação da cinética de crescimento do fungo frente ao ativo biológico, que foi analisado quanto aos seus fitoconstituintes.

2. METODOLOGIA

Os ensaios biológicos foram realizados em laboratórios de Farmacologia da Universidade Municipal Pública de Gurupi - UnirG e de Microbiologia da Universidade Federal do Tocantins (UFT), campus de Gurupi-TO, sendo 2: um teste de sensibilidade a difusão em disco e outro teste de cinética do crescimento do fungo, ambos frente ao ORC como ativo biológico. Foi feita análise quanto aos fitoconstituintes do óleo-resina de *C. langsdorffii*, mediante cromatografia gasosa (CG-FID) realizada pela Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG-BH), a partir da amostra enviada pela UnirG no âmbito de pesquisa institucionalizada e com fomento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Tocantins (FAPT-TO).

2.1. Obtenção de óleo resina de copaíba (ORC) e preparo da solução estoque

O ativo natural ORC foi coletado em Área de Preservação Permanente (APP) de propriedade rural do município de Cariri, região sul do estado do Tocantins, localizado ao norte do Brasil e bioma Cerrado, cuja árvore encontra-se nas seguintes coordenadas de localização GPS: latitude de -12.039911S; longitude de -49.159672W. A amostra foi retirada no tronco da árvore a uma altura de 60cm do chão, cuja perfuração atingiu o centro do caule, por cerca de 30cm, usando um trado manual de 7/8 polegada de diâmetro e 60cm de comprimento. Esta perfuração foi em declive para que o ORC escorresse por meio de uma mangueira de 3/4 polegada, inserida no orifício do caule e findando no seu extremo, que foi acoplada a um coletor do tipo frasco de vidro na cor âmbar e volume de 250 mL, a fim de receber o líquido, que foi de cor avermelhada. Esta característica é presente somente em óleo-resina da espécie *C. langsdorffii*, popularmente conhecida como copaíba vermelha (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002;



BERNARDO et al; 2025). Após a colheita, o orifício foi tampado com uma rolha a fim de preservar a árvore.

A solução estoque de ORC (Tabela 1) foi obtida a partir da solubilização em Tween 80 a 1% (1mL de Tween 80 adicionado a 99mL de água destilada estéril) e, por meio da técnica de diluição seriada, foram produzidas as 4 diferentes concentrações (C) utilizadas nos 2 bioensaios, sendo: C1 (100% puro), C2 (75%), C3 (50%) e C4 (25%), onde para cada concentração o volume total foi de 100 μ L. O controle positivo usado foi o fármaco Nistatina suspensão 100.000 UL/mL e o negativo foi Tween 80 a 1%.

Tabela 1. Preparo da solução estoque nas 4 concentrações do Óleo Resina de Copaíba (ORC)

Concentração	Quantidade de Óleo-resina de <i>C. langsdorffii</i> (μ L)	Quantidade de Tween 80 (1%) (μ L)	Total (μ L)
C1 (100%)	100	-	100
C2 (75%)	75	25	100
C3 (50%)	50	50	100
C4 (25%)	25	75	100

Fonte: Autores

2.2. Bioensaio pelo teste de difusão em disco: método de Bauer-Kirby

Os procedimentos foram realizados sob capela de fluxo laminar. O teste de sensibilidade à difusão em disco pelo método Bauer-Kirby foi usado para avaliar a atividade do efeito fúngico e de acordo com as recomendações do documento M44-A2 do Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais (CLSI, 2009). Uma comparação é realizada usando como referência padrão um agente quimioterápico (controle positivo) e um diluente ou agente emulsificante (controle negativo), objetivando avaliar a atividade biológica do óleo-resina de *C. langsdorffii* frente a *Candida*.

As condições desse bioensaio foram: o fungo de *C. albicans* (ATCC 10231) de cepa padrão (*American Type Culture Collection-ATCC*) foi preparado e posteriormente inoculado em placas de ágar Mueller-Hinton e que, por sua vez, recebeu os discos embebidos com o ativo antifúngico ORC em 4 concentrações e respectivos controles.

2.2.1. Inoculação e placas teste

Cada inóculo foi transferido para tubos de ensaio contendo solução salina estéril. A suspensão obtida foi ajustada quanto à turbidez, de modo a corresponder ao padrão 0,5 da escala de *McFarland*. Após 15 minutos, o fungo foi semeado em placas de Petri (90 \times 15mm) contendo ágar YPD, sendo manipuladas assepticamente e executadas em triplaca. O



carregamento de 10 μ L de ORC em cada disco foi feito usando micropipeta calibrada e obedecendo às 4 diferentes concentrações. Da mesma forma, foram carregados os discos com o controle positivo (nistatina suspensão 10 μ l) e com o negativo (Tween 80 a 1%). A distância mínima entre todos os discos, dispostos na superfície do meio, foi de 2,4 cm. As placas foram incubadas de cabeça para baixo em estufa bacteriológica a \pm 33 °C subsequentemente avaliadas após 48 horas.

A atividade inibitória foi observada a cada halo ou uma zona de inibição formada em torno de cada disco do teste, evidenciando a inibição ou não do crescimento fúngico. O diâmetro do halo foi medido em milímetros (mm) usando um halômetro, cujas medidas foram anotadas e média aritmética calculada.

2.3. Bioensaio da cinética de crescimento microbiana por espectrofotometria

A cinética de crescimento de *C. albicans* foi avaliada na presença do ativo biológico natural ORC, visando investigar a capacidade deste ativo interferir no crescimento fúngico, seja por efeito fungistático, inibindo a proliferação celular, ou fungicida, promovendo a morte do microrganismo. Dessa forma, a análise da curva de crescimento permite identificar alterações nas fases da cinética microbiana em função das diferentes concentrações de ORC e do tempo de incubação avaliado.

2.3.1. Preparo da suspensão fúngica

O preparo da suspensão fúngica foi realizado em fluxo laminar seguindo as boas práticas de laboratório. Com o auxílio de uma alça bacteriológica, devidamente esterilizada, procedeu-se o adição de duas alçadas de colônias da cepa cultivada diretamente no meio sólido dentro de um erlenmeyer com capacidade para 250mL e contendo 100mL de meio YPD líquido. O erlenmeyer foi incubado em shaker, sob agitação de 180 rpm (rotação por minuto), a 28°C por 24 horas (*overnight*).

2.3.2. Determinação da cinética microbiana por espectrofotometria

As metodologias referenciais utilizadas foram os protocolos de susceptibilidade antifúngica descritos pela norma M27 do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008), com modificações para avaliação da cinética de crescimento por espectrofotometria (OLIVARES-MARIN *et al.*, 2018).

Após o cultivo da cepa em meio YPD, a suspensão de *C. albicans* foi ajustada de acordo com as orientações CLSI M27, sendo realizada a diluição da cultura (1:20), a fim de ter a



concentração celular ideal antes da medição da absorbância. Assim, deu-se continuidade em fluxo laminar na padronização do inóculo, utilizando erlenmeyers com capacidade de 250 mL cada, contendo 100mL de meio líquido YPD, sendo inoculados 1mL da suspensão fúngica preparada anteriormente, juntamente com 1mL das 4 diferentes concentrações de ORC. Para o controle positivo do crescimento fúngico foi utilizado o meio de cultura contendo 1mL da suspensão fúngica e 2mL de nistatina em suspensão.

Três alíquotas de 2mL foram retiradas de cada um dos erlenmeyers logo no início para monitoramento da curva de crescimento no tempo zero. Os erlenmeyers foram incubados em shaker, sob agitação de 180 rpm (rotação por minuto), a 28°C, por 48 horas.

A cinética microbiana da *C. albicans* foi realizada em triplicata, com leitura da absorbância a cada 3 horas no decorrer de 12 horas, em espectrofotômetro (BioSpectro/SP-200) e comprimento de onda de 600 nanômetros, com curva de crescimento exponencial (OLIVARES-MARIN *et al.*, 2018). Os resultados foram apresentados como média aritmética e representados em gráficos por modelo logístico de análise.

2.4. Caracterização fitoquímica do ativo ORC

Foi enviada 01 amostra do ORC para o departamento de Química da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, sendo 30mL acondicionado em frasco de vidro na cor âmbar, identificado e lacrado. A análise química foi feita pela Rede Mineira de Estudos Avançados em Cromatografia do Departamento de Química, a partir de solução preparada a 2% m/v com ORC em acetato de etila e injeção no cromatógrafo. As condições cromatográficas foram adaptadas a partir de Xavier-Junior *et al.* (2017), resultando em combinação de duas técnicas, sendo a cromatografia em fase gasosa equipada com detector seletivo de massas (GC-MS) e a cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama (GC-FID), cujos procedimentos iniciais foram: a análise foi feita em um cromatógrafo Shimadzu modelo QP5050A; a eluição foi por coluna Agilent HP-5 column (30 m x 0.25 mm, 0.25 µm); a programação de temperatura foi de 50°C por 0 minutos e o aquecimento a 320°C a uma taxa de 3°C/min mantida por 10 minutos, onde as temperaturas do injetor, interface e fonte de íons foram respectivamente 250°C, 260°C e 260°C; o gás hélio foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de 0,90 mL/min e injeção no modo split com razão de divisão de 1/30; o monitoramento dos íons foi realizado no modo full scan no intervalo m/z de 40 a 600 m/z. Deu-se continuidade a análise fitoquímica a fim de obter a pureza cromatográfica e a quantificação dos metabolitos secundários, por Cromatografia Gasosa (GC/FID) em cromatógrafo a gás acoplado ao ionizador em chama da marca Perkins Elmer, modelo Clarus 500, usando as mesmas condições de aquecimento e a



mesma coluna usada para análises em GC/MS. Isto foi feito, pois, uma vez que a resposta da série homóloga de hidrocarbonetos é similar, possibilita o uso dos dados do FID para normalizar as áreas dos picos e determinar o percentual de cada componente do ativo ORC. Desta forma, os índices de retenção linear foram obtidos a partir das análises de um padrão de hidrocarbonetos lineares contendo cadeias de C8 a C20, da Sigma Aldrich, REF.: 04070.

Os resultados foram apresentados em tabela, evidenciando o quantitativo/número do pico, o Tempo de Retenção (RT), o Índice de Retenção Linear Calculado (IRcal), o composto fitoquímico (metabolito secundário), a respectiva identificação pelo detector do cromatógrafo (MS) e o índice de retenção Kovats (RI), a fim de confirmar o enquadramento do metabolito secundário no padrão esperado e obter o perfil fitoquímico do óleo-resina analisado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Difusão em disco e cinética do crescimento de *C. albicans* frente ao Óleo de Resina de Copaíba (ORC)

O teste de difusão de disco e a cinética de crescimento são métodos que testam a sensibilidade de microrganismos aos antimicrobianos permitindo ao pesquisador averiguar a olho nu, na maioria das vezes, a progressão das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) ou, no caso do presente estudo medir, respectivamente, os halos de inibição ao crescimento do fungo e a turbidez do meio de cultura que reflete na cinética de crescimento, com valores de absorvância obtidos pelo aparelho de espectrofotometria.

A resposta quanto à atividade antifúngica do ORC nas condições avaliadas e pelo método de difusão de disco foi representada pela ausência de formação do halo nas concentrações utilizadas e consequente não inibição do crescimento fúngico e, ao contrário, presença de halo mediante ação do fármaco Nistatina (Tabela 2).

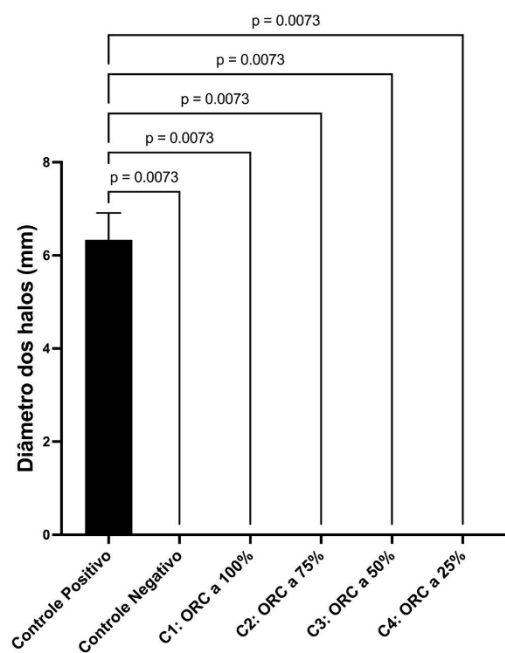
Tabela 2. Inibição de crescimento de *C. albicans* com o Óleo-Resina de *C. langsdorffii* em diferentes concentrações e método de difusão em disco

Ativos antifúngicos	R1	R2	R3	Média dos halos (mm)
ORC* puro - C1 (100%)	0	0	0	0
ORC C2 (75%)	0	0	0	0
ORC C3 (50%)	0	0	0	0
ORC C4 (25%)	0	0	0	0
Controle positivo (P) (Nistatina 10 µl)	7	7	6	6,66
Controle negativo (N) (Tween 1%)	0	0	0	0

*ORC-Óleo Resina de Copaíba. Fonte: Autores.

O parâmetro de inibição do crescimento fúngico foi avaliado estatisticamente (Gráfico 1) por meio da análise de variância unidirecional (ANOVA não paramétrica), seguida do teste post hoc de Dunnett. Para todos os testes estatísticos, foi empregado um nível de significância de $p < 0,05$. As análises estatísticas foram conduzidas usando o software GraphPad Prism, versão 7.0 para Windows (GraphPad Software). Não houve ($p=0.0073$) ação fungistática de ORC, quando comparado com ação do fármaco Nistatina, nas condições avaliadas.

Gráfico 1. Parâmetro estatístico de inibição de crescimento de *C. albicans* em teste de difusão em disco frente às diferentes concentrações do Óleo de Resina de Copaíba (ORC)



Estudos anteriores apresentaram resultados demonstrando tanto a atividade antifúngica assim como também a não atividade, ao serem avaliadas pelo mesmo método de difusão em disco e com óleo-resina de copaíba sobre *Candida spp.* Nestes, Deus, Alves e Arruda *et al.* (2011) observaram que tanto o óleo destilado quanto o óleo-resina da copaíba, nas concentrações variando entre 0,08 mg mL⁻¹ a 1,6 mg mL⁻¹, demonstraram-se efetivos em cepas de *C. parapsilosis* e frente ao gênero *Candida* foram promissores, com valores de inibição atingindo índices acima de 90%. No entanto, destacaram que a fração do óleo de copaíba que passou pela destilação quando comparado com óleo-resina pode ter favorecido sua ação fungitóxica nas condições avaliadas, o que não foi realizado no presente estudo. Os autores



atribuíram a essa destilação fracionada o fato da minimização de interferência de outras substâncias químicas, possivelmente presentes no óleo-resina de copaíba. Ainda, destacaram a ação fungistática desse óleo-resina, em medida que inibiu o crescimento fúngico, contudo, não foi capaz de matá-lo, pois após 8 dias o mesmo expandiu na placa devido à sua provável evaporação, uma vez que foi emulsificante em Tween a 5%, assim perdendo a efetividade. Portanto, é sugestivo que em estudos similares seja utilizado o óleo-resina de copaíba destilado e não apenas o emulsificado, como foi no presente estudo.

Admite-se no presente estudo que o uso do método da difusão em disco poderá ter comprometido os resultados, onde a ausência de formação de halo de inibição não necessariamente demonstra ausência de atividade antifúngica. Isto por que o ORC é um composto oleoso hidrofóbico e, portanto, apresenta baixa difusão em meio sólido, o que sugere adoção de outros métodos, tais como a microdiluição em caldo para determinação da Concentração Mínima Inibitória (CIM) e da Concentração Fungicida Mínima (CFM). Outro ponto, refere-se ao uso do ORC sem um solvente universal, como óleo mineral, o que provavelmente tenha comprometido sua expressão de resposta inibitória do crescimento fúngico. Foi utilizado apenas o Tween 80 que, ao ser utilizado com óleo-resina de copaíba, possivelmente desempenhou suas funções como agente solubilizante, emulsionante e tensoativa. Em estudo conduzido por Pereira *et al.* (2018), onde ficou comprovada a ação antibacteriana frente a *S. aureus* e nas concentrações de 100% a 25% de óleo-resina de copaíba, foi utilizado o óleo mineral esterilizado em autoclave como solvente e método de cilindro em placa.

Em relação às concentrações do ativo ORC utilizadas têm-se resultados similares ao estudo em questão, onde Tobouti *et al.* (2016) verificaram ausência de ação inibitória contra *C. albicans* em concentrações variando de 92,8 mg/mL até 0,0093 mg/mL. Este fator concentração pode não ser o ponto crucial da inatividade constatada no presente estudo (Tabela 2 e Gráfico 1), cujas variações se deram do ORC puro até redução para 25%. Ainda assim, nos estudos supracitados, os autores verificaram atividade antiaderente do óleo-resina em sua maior concentração e com capacidade de reduzir a adesão do fungo a blocos de resina acrílica em dente, incidindo sobre alguma atividade não esclarecida.

O fungo *C. albicans* mostra-se sensível a diversos óleos essenciais (TOBOUTI *et al.*; 2016; PACKER; LUZ; 2007; MASSON *et al.*; 2013). Embora existam poucos artigos sobre a atividade inibitória e/ou fungicida do óleo-resina em questão contra a *C. albicans*, tem-se constatações de sua ação antifúngica contra outras espécies de *Candida sp.*, fungos e bactérias (PIERI *et al.*; 2010).



Variadas metodologias já foram testadas a fim de comprovar a eficiência dos óleos do gênero *Copaifera sp.* frente a microrganismos, as quais incluem outras espécies de copaíba e diferentes técnicas de extração (Pieri *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2008; Pieri *et al.*; 2010) ou mesmo variação das espécies de cepas padronizadas e isolados (Massa *et al.*; 2018) dentre outros (Deus, Alves e Arruda *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2008; Masson *et al.*, 2013) cujos resultados foram similares ao do presente estudo pelo uso do ORC e não efetividade antifúngica nas condições avaliadas, com lacunas ainda a serem ajustadas.

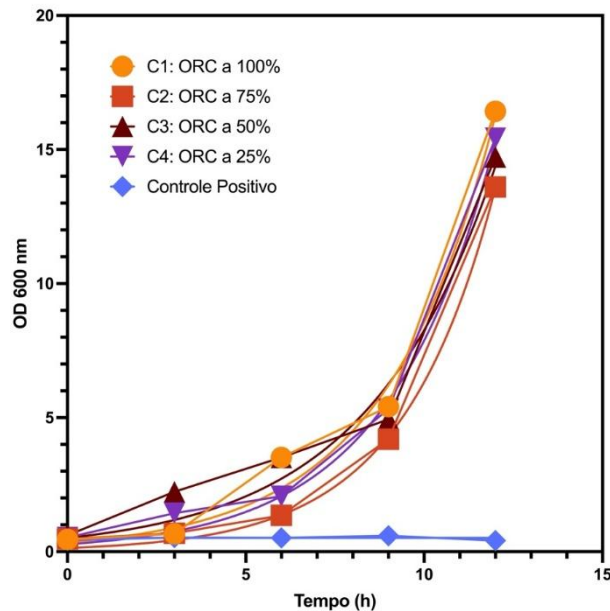
Quanto à cinética do crescimento pela técnica espectrométrica, o perfil cinético de crescimento de *C. albicans* mostrou ausência de efetividade antifúngica ou mesmo antifungistática deste ativo óleo-resina de *C. langsdorffii*, ao correlacionar absorvância com os tempos de incubação do fungo mediante os ativos antifúngicos avaliados (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios de absorvância (OD 600 nm) de *C. albicans* frente às diferentes concentrações de Óleo Resina de Copaíba (ORC)

Ativos antifúngicos	Tempo (h)/Absorvância média (OD600 nm)				
	0h	3h	6h	9h	12h
C1 ORC 100%	0,46	0,67	3,52	5,41	16,43
C2 ORC 75%	0,48	0,69	1,36	4,20	13,61
C3 ORC 50%	0,61	2,24	3,52	4,94	14,72
C4 ORC 25%	0,53	1,44	2,07	5,32	15,43
Controle Positivo (Nistatina + <i>C. albicans</i>)	0,43	0,53	0,52	0,60	0,42

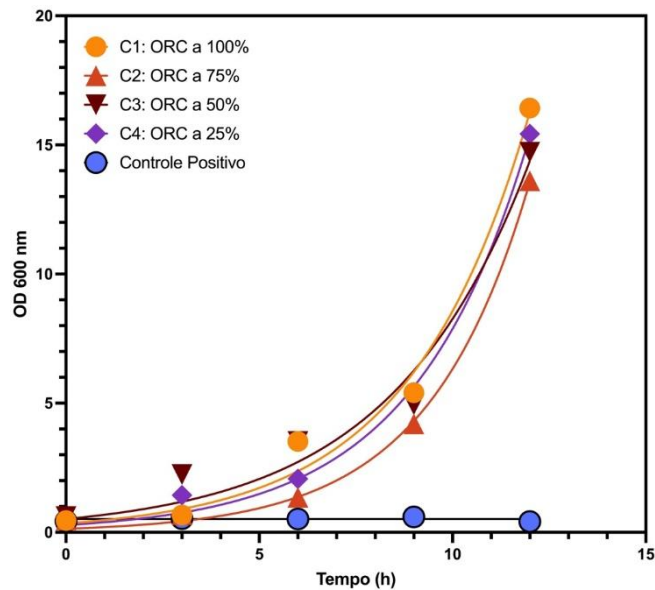
Fonte: autores.

O perfil cinético foi verificado pelo crescimento progressivo de *C. albicans* nos grupos tratados com ORC ao longo do período experimental (Gráfico 2), embora nas primeiras horas de incubação (0–3 h) verificou-se discreta elevação dos valores de absorvância e leve inibição inicial do crescimento fúngico. Observa-se que o grupo C1 (ORC 100%) apresentou OD600 de 0,46 para 0,67, enquanto o grupo C3 (ORC 50%) apresentou aumento mais acentuado, de 0,61 para 2,24. Em contrapartida, o controle positivo (nistatina + *C. albicans*) permaneceu praticamente estável, variando entre 0,43 e 0,53.

Gráfico 2. Curva de crescimento de *C. albicans* frente ao ativo Óleo Resina de Copaíba (ORC)

A comparação dos níveis de absorvância das 4 diferentes concentrações de óleo de copaíba e controle positivo, avaliados a cada 3 horas pelo indicador crescimento do fungo mostrou, após 6 h de incubação, crescimento expressivo em todos os grupos tratados com ORC (Gráfico 2). Esse comportamento manteve-se até 12 h, período em que todas as amostras contendo ORC apresentaram elevada proliferação celular, com absorvância maior no grupo C1, seguido de C4, C3 e C2. Por outro lado, os valores da absorvância do controle positivo mantiveram-se baixos e praticamente constantes durante todo o experimento, finalizando com OD600 de 0,42, demonstrando efetiva inibição do crescimento de *C. albicans* pela nistatina. Dessa forma, infere-se que os resultados com o ativo ORC não apresentou atividade antifúngica sustentada frente a *C. albicans* nas condições avaliadas, permitindo crescimento exponencial do microrganismo ao longo do tempo.

Foi feito o ajuste dos dados pelo modelo de crescimento exponencial (Gráfico 3), restando confirmar que o ORC não exerceu efeito antifúngico efetivo contra *C. albicans* nas condições avaliadas, permitindo crescimento exponencial do microrganismo ao longo do período experimental.

Gráfico 3. Curva de crescimento de *C. albicans* ajustada ao modelo exponencial

Destaca-se que foi adequado este ajuste do modelo exponencial aplicado na análise dos dados experimentais. Os coeficientes de determinação (R^2) obtidos na modelagem para os grupos tratados variaram entre 0,9707 e 0,9984. Em contraste, o controle positivo apresentou R^2 de apenas 0,0101, confirmando ausência de crescimento exponencial devido à ação antifúngica da nistatina. Porém, os valores da constante de crescimento (k) foram relativamente elevados para os grupos contendo ORC, variando de 0,2773 a 0,3823 h^{-1} . O maior valor foi observado para o grupo C2 (ORC 75%; $k = 0,3823 h^{-1}$), seguido por C4 (ORC 25%; $k = 0,3336 h^{-1}$), C1 (ORC 100%; $k = 0,3212 h^{-1}$) e C3 (ORC 50%; $k = 0,2773 h^{-1}$). Já o controle positivo apresentou valor de k próximo de zero (0,0030 h^{-1}), indicando ausência de proliferação significativa, o que é justificado em razão do tempo de duplicação celular (1,81h a 2,50h) para os grupos tratados com ORC, caracterizando rápida multiplicação celular. O menor tempo de duplicação foi observado em C2 (1,81h), evidenciando maior velocidade de crescimento. Outros modelos de crescimento não apresentaram ajuste adequado aos dados experimentais obtidos, uma vez que seria necessário observar a formação de um platô máximo e estável de crescimento celular, característico da fase estacionária (modelo de Hill, Logístico e Gompertz). Para isso, seriam necessárias mais horas de incubação experimental. Assim, os resultados demonstraram predominantemente a fase exponencial de crescimento de *C. albicans*, sem evidências de estabilização celular ao longo do período avaliado.



Em estudo antecedente, a avaliação da cinética do crescimento comprovou ação antifúngica de óleo de *R. officinalis*, quando submetido a *C. albicans* (FREIRE *et al.*; 2012). As soluções feitas no estudo citado foram a partir de 1,8mL de ágar Sabouraud-Dextrose, 2mL do óleo da espécie analisada concentrado a 1 e 2% e 0,2mL de concentrado fúngico contendo 3×10^5 microrganismos, inoculando as placas de ágar Sabouraud-Dextrose com 10 μ L dessas soluções, com leituras nos instantes: zero, 30, 60 e 120 min, com leitura das triplicatas 24h após a incubação a 37 °C, resultando já no trigésimo minuto a morte do fungo. Não obstante, ainda por esse método analítico o óleo dessa mesma espécie já demonstrou efetividade diante de outros patógenos, comumente bactérias (MASSON *et al.*; 2013; SANTOS *et al.*; 2008). Santos *et al.* (2008) observaram em microscópio eletrônico os efeitos do óleo-resina da copaibeira na morfologia bacteriana, após submetidas à CIM e a Concentração Bactericida Mínima (CBM). São muitos os estudos que observaram a eficácia no controle proliferativo e/ou morte de fungo, medido pela cinética de crescimento de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) e cujo óleo ativo passou por técnicas de emulsificação. Este aspecto metodológico sugere que o ORC do presente estudo, uma vez emulsificado em óleo mineral, teria mais expressão antifúngica, pois, acredita-se em provável perda de compostos voláteis presentes no ORC ao longo do experimento de avaliação da cinética antimicrobiana.

É recomendável a continuidade de estudos de natureza similar uma vez que o óleo-resina de *C. langsdorffii* tem potencial como ativo natural para fitoterápico tradicional em casos de candidíase, porém, requerendo evidências científicas. É crescente a quantidade de medicações convencionais, em especial o fluconazol (Vieira e Santos; 2017; Andreu *et al.*; 2007), para as quais a *Candida* tem se tornado resistente e não age de maneira eficaz como tratamento padrão, sobretudo em pacientes com diabetes mellitus, doença renal crônica, neutropenia e tratamento prévio com antibióticos como vancomicina e linezolida (QUINTERO; HERNANDO; 2010). Por outro lado, o bioma Cerrado brasileiro é um dos reservatórios com vasto acervo de antimicrobianos naturais, com potencial de uso e tratamento contra o gênero *Candida* sp. (SOUZA *et al.*; 2023). Portanto, é relevante a continuidade de pesquisas científicas frente aos desafios das ciências biológicas e saúde no tratamento das intercorrências decorrentes, no campo da saúde da mulher e ginecologia, sobretudo.

3.2. Composição química do óleo-resina

O óleo-resina de copaíba é composto primariamente por dois grandes grupos de metabólitos secundários de origem terpênica: sesquiterpenos (fração volátil ou óleo essencial) e diterpenos (fração

ácida e resinosa), conferindo à resina propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias, cicatrizantes (LIMA *et al.* 2020; TOBOUTI *et al.*, 2016; DEUS; ALVES; ARRUDA, 2011).

Os resultados (Tabela 3) evidenciam composição fitoquímica do ORC analisado, com importantes agentes antimicrobianos, tais como o farnesol, um terpeno associado a atividade antifúngica (DERENGOWSKI *et al.*; 2009), além do β -cariofileno, α -humuleno e germacreno, evidenciados no óleo-resina de estudos anteriores (LIMA *et al.*; 2020).

Tabela 4. Caracterização cromatográfica por GC/MS e GC/FID do óleo resina de copaíba (ORC), diluída em acetato de etila, concentração 2% m/v

Pico	RT	IR _{cal}	Composto	Identificação
1	25,35	1413	β -elemeno	MS, RI
2	28,12	1488	β -cariofileno	MS, RI
3	28,97	1511	Não identificado	-
4	29,13	1515	Germacreno D	MS, RI
5	29,39	1522	Cloveno	MS, RI
6	29,55	1527	3-Cloropropionanilida	MS, RI
7	29,71	1531	Zingibereno	MS, RI
8	29,94	1537	Não identificado	-
9	30,20	1544	β -bisaboleno	MS, RI
10	30,33	1548	β -curcumeno	MS, RI
11	30,43	1551	α -calocoreno	RI
12	31,51	1580	α -humuleno	MS, RI
13	34,59	1664	(E,Z)-farnesol	MS, RI
14	36,18	1707	(E,E)-farnesol	MS, RI

Fonte: Autores

O farnesol é um sesquiterpeno que inibe a formação de biofilmes de *Candida albicans*, reduzindo seu crescimento e filamentação, e seu mecanismo de ação já foi atribuído à provável capacidade de agir na degeneração citoplasmática (DERENGOWSKI *et al.*; 2009).

Os biomarcadores do tipo compostos terpênicos em óleo-resina de copaíba foram caracterizados por Lima *et al.* (2020) e pelo uso em primeira vez do fator de retenção relativo (R_{fR}) por HPTLC. Esses autores elucidaram, o β -cariofileno, α -humuleno e germacreno, sendo os mesmos presentes também no ORC avaliado (Tabela 3), atribuindo destaque para o germacreno mediante sua ação antimicrobiana. Tais compostos orgânicos constituem o óleo-resina em outra espécie, sendo *Copaifera officinalis* (Jacq.), predominando terpenos como β -elemeno, β -cariofileno, β -bisaboleno e α -humuleno dentre os constituintes bioativos presentes e caracterizados pelo processo de destilação molecular, destacando essa classe de metabolitos



secundários devido às suas propriedades medicinais (MENDONÇA; ONOFRE, 2009; GALUCIO *et al.*; 2016).

Adicionalmente, outros estudos indicam o ácido copálico como biomarcador, já encontrado em todas as espécies de copaibeiras (GALUCIO *et al.*; 2016). Esses autores, diferentemente do presente estudo, utilizaram a destilação molecular para recuperar e purificar sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba na corrente de destilado, haja visto que são considerados termossensíveis e podem volatilizar, porém com possibilidades de recuperação na corrente de resíduo. É possível que isto justifique a ausência de alguns compostos químicos do metabolismo secundário, em razão da técnica utilizada. Este ácido, assim como sesquiterpenos β -cariofileno e o α -copaeno já são apontados como os principais componentes do óleo-resina de copaibeiras de várias espécies já estudadas nos diversos biomas brasileiros, consistindo em possíveis biomarcadores quanto à autenticidade de óleos da copaibeira.

Portanto, a espécie *C. langsdorffii*, avaliada ao sul do Estado do Tocantins e na região central do Brasil e bioma Cerrado, confere um importante quimiotipo a ser melhor estudado regionalmente quanto ao seu uso biológico para fins medicinais e fitoterapia de interesse do SUS. Isto, pois, não se pode afirmar que o fungo no presente estudo apresentou alta resistência frente a este ativo biológico, o que justifica também uma revisão da metodologia utilizada a fim de verificar a suscetibilidade do fungo ao ORC.

Complementarmente, é imperativo registrar sobre um achado inédito neste estudo. Trata-se da presença de composto químico 3-Cloropropionilida, encontrado no ORC analisado (Tabela 3). Trata-se de substância orgânica sintética presente em herbicida gramínida (agrotóxico), sugerindo agente contaminante da árvore cujo óleo-resina foi extraído. É possível que tal contaminação seja proveniente de extensas áreas cultivadas com soja nas circunvizinhanças da propriedade, o que pode ser melhor explorado em estudos posteriores, devido à relevância para conservação da biodiversidade do Cerrado, meio ambiente, segurança alimentar e saúde. Nos óleos de copaíba não se admite, de maneira geral, outro composto químico além daqueles pertencentes às duas classes, sendo sesquiterpenos e diterpenos (VEIGA JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005).

4. CONSIDERAÇÕES

O ativo biológico óleo-resina de *C. langsdorffii* não apresentou atividade antifúngica frente à cepa de *C. albicans*, nas condições avaliadas, pelo método do teste de difusão em disco e cinética do crescimento antimicrobiano por espectrometria. Contudo, não se pode afirmar que



o fungo no presente estudo apresentou alta resistência frente a esse ativo biológico, o que justifica também um olhar sobre possíveis vieses metodológicos.

Na análise da composição fitoquímica de ORC por Cromatografia Gasosa (GC/MS e GC/FID), ficou evidenciada a presença de compostos como farnesol, β -cariofileno, α -humuleno, β -bisaboleno e germacreno, sendo importantes biomarcadores de ação antimicrobiana e já elucidados em estudos anteriores. Isto leva a hipóteses sobre alguma fragilidade metodológica envolvendo a emulsificação do ORC, o que influencia na sua melhor difusão no meio utilizado. A temperatura envolvida nos métodos pode levar a perda de sesquiterpenos, uma vez que são termossensíveis e podem passar pelo processo de volatilização.

Em futuros estudos sugere-se que seja levado em conta o fato do óleo-resina de copaíba ser um composto oleoso hidrofóbico, apresentando baixa difusão em meio sólido, sugerindo adoção de bioensaios pelo método da microdiluição em caldo, por exemplo. Recomenda-se associar a esse ativo natural um solvente universal, como óleo mineral esterilizado, em substituição ao Tween 80 (1%). Existem variações metodológicas de testes *in vitro* e possibilidades de testes *in vivo*, a fim de elucidar de maneira mais abrangente seu potencial terapêutico.

A busca por alternativas antifúngicas eficazes permanece como desafio relevante, especialmente diante do aumento da resistência microbiana, tornando indispensável o aprofundamento de pesquisas que visem ao desenvolvimento de novas estratégias de controle da candidíase. É relevante que o óleo-resina da espécie *C. langsdorffii*, avaliada ao sul do Tocantins e na região central do Brasil e bioma Cerrado, seja melhor estudada quanto ao seu uso biológico para fins medicinais e fortalecimentos da fitoterapia de interesse do SUS.

O presente estudo amplia o conhecimento científico ao fornecer dados que auxiliam na construção de um panorama atualizado acerca da atividade do referido óleo-resina frente a *C. albicans* bem como subsidia o desenvolvimento de novas pesquisas.

REFERÊNCIAS

- ABRÃO, F et al. Oleorresina de *Copaifera langsdorffii* e seus compostos isolados: efeito antibacteriano e atividade antiproliferativa em linhagens de células cancerígenas. **BMC Complement Altern Med.** 2015. p.15:443. DOI:10.1186/s12906-015-0950-2.
- ANDREU, C.M.F. et al. Sensibilidad in vitro de cepas de *Candida* frente a fluconazol y anfotericina B. **Rev Cubana Med Trop.** 2007; v.59, n.2. p. 113–118.
- BIZZO, H.R et al. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Quim Nova.** 2009; v.32, n.3, p.588-594. DOI:10.1590/S0100-40422009000300005.



BRASIL, Ministério da Saúde. *Política e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos*. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 190 p. https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_programa_nacional_plantas_medicinais_fitoterapicos.pdf.

CHAMI, F et al. Evaluation of carvacrol and eugenol as prophylaxis and treatment of vaginal candidiasis in an immunosuppressed rat model. **J Antimicrob Chemother**. 2004. v.54, n.5, p.909-914. DOI:10.1093/jac/dkh430.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts: *approved guideline* - **CLSI document M44-A2**. 2. ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: *approved standard* - **CLSI document M27-A3**. 3rd ed. Wayne (PA): CLSI; 2008.

DERENGOWSKI, L. S. et al. Antimicrobial effect of farnesol, a *Candida albicans* quorum sensing molecule, on *Paracoccidioides brasiliensis* growth and morphogenesis. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 8, n. 13, 2009. DOI: 10.1186/1476-0711-8-13.

DEUS, R.J.A; ALVES, C.N; ARRUDA, M.S.P. Avaliação do efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne). **Rev Bras Plantas Med**. 2011, v.13, n.1, p.1-DOI:<https://doi.org/10.1590/S1516-05722011000100001>.

FREIRE, I.C.M et al. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* sobre a cinética do crescimento de *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. **Rev Bras Cienc Saude**. 2012; v.16, n.3, p.343-346. DOI:10.4034/RBCS.2012.16.03.10.

GALUCIO, C. de S. et al. Recuperação de sesquiterpenos do óleo-resina de copaíba a partir da destilação molecular. **Quím. Nova**, Vol. 39, No. 7, 795-800, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160096>.

LIMA et al. Caracterização e controle de qualidade de óleos de copaíba (*Copaifera* sp.) utilizando detecção de marcadores por fator de retenção relativa em HPTLC. **Quím. Nova**, v.43, n. 7, 2020. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170563>.

LINHARES, I.M et al. **Vaginites e vaginoses**. São Paulo: Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia; 2018. (Protocolo FEBRASGO – Ginecologia, Comissão Nacional Especializada em Doenças Infectocontagiosas).

MACIAS-PAZ, I.U et al. *Candida albicans*: the main opportunistic pathogenic fungus in humans. **Rev Argent Microbiol**. 2023. v.55, n.3, p.189-198. DOI:10.1016/j.ram.2023.02.002.

MASSA, N. et al. Antifungal activity of essential oils against azole-resistant and azole-susceptible vaginal *Candida glabrata* strains. **Can J Microbiol**. 2018. v.64, n.10, p.647-663. DOI:10.1139/cjm-2018-0112.

MASSON, D.S et al. Antimicrobial activity of copaíba (*Copaifera langsdorffii*) oleoresin on bacteria of clinical significance in cutaneous wounds. **Rev Bras Plantas Med**. 2013; v.15, n.4., p.664-669. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722013000500006>.



MONDELLO, F et al. In vitro and in vivo activity of tea tree oil against azole-susceptible and resistant human pathogenic yeasts. **J Antimicrob Chemother**. 2003. v.5, p.1223-1229. DOI:10.1093/jac/dkg202.

OLIVARES-MARIN, I. K. et al. *Saccharomyces cerevisiae* exponential growth kinetics in batch culture to analyze respiratory and fermentative metabolism. **Journal of Visualized Experiments**, n. 139, e58192, 2018. DOI: 10.3791/58192.

PACKER, J.F; LUZ, M.M.S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem natural. **Rev Bras Farmacogn**. 2007. v.17, n.1, p.102-107. DOI: 10.1590/S0102-695X2007000100019.

PEREIRA, K. D. C; POSSOBON, A. L. Candidíase vulvovaginal entre acadêmicas de medicina do oeste do Paraná. **RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar** - ISSN 2675-6218, [S. l.], v. 4, n. 2, p. e422808, 2023. DOI: <https://doi.org/10.47820/recima21.v4i2.2808>.

PEREIRA, N.C. M et al. Atividade antimicrobiana do óleo-resina de copaíba natural/comercial contra cepas padrão. **Journal Health NPEPS**. 2018; v.3, n.2, p.527-539. DOI: <http://dx.doi.org/10.30681/252610103189>.

PIERI, F.A et al. Antimicrobial profile screening of two oils of *Copaifera* genus. **Arq Bras Med Vet Zootec**. 2012, v.64, n.1, p.241-244. DOI:10.1590/S0102-09352012000100034.

PIERI, F.A et al. Efeitos clínicos e microbiológicos do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre bactérias formadoras de placa dental em cães. **Arq Bras Med Vet Zootec**. 2010; v.62, n.3, p.578-585. DOI://doi.org/10.1590/S0102-09352010000300012.

QUINTERO, O., HERNANDO, C. Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. **Infectio**. 2010. v.14, n.2, p.172-180. DOI:10.1016/S0123-9392(10)70057-2.

REIS, H.D; BESSA, N.G.F de et al. **Utilidade clínica dos óleos essenciais na saúde da mulher para o tratamento fitoterápico da candidíase**: uma revisão sistemática com ênfase no potencial do óleo de copaíba (*Copaifera* sp) a partir da biodiversidade brasileira e perspectivas tecnológicas aplicadas à biomedicina. Seven Editora[S.L.], p.639–665, 2023. DOI: <http://sevenpublicacoes.com.br/index.php/editora/article/view/244>.

RODRIGUES, M. et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais no gênero *Candida*: um estudo bibliométrico. **RECIMA21-Revista Científica Multidisciplinar**- ISSN 2675-6218, v. 4, n. 4, p. e442960-e442960, 2023. DOI: <https://doi.org/10.47820/recima21.v4i4.2960>.

SANTOS, A.O et al. Antimicrobial activity of Brazilian copaiba oils obtained from different species of the *Copaifera* genus. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 2008. v.103, n.3, p.277-281. DOI:10.1590/S0074-02762008000300011.

SILVA, D. S. et al. Potencial anti-inflamatório de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fabaceae): uma revisão de literatura. **Cuadernos de Educación y Desarrollo**, v.17, n.7, p. 01-19, 2025. DOI: 10.55905/cuadv17n7-047.



SOUZA, R.L et al. Avaliação da atividade fungitóxica do óleo de copaíba (*Copaifera* spp.) da Amazônia Ocidental contra a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em mamoeiros (*Carica papaya* L.). **Res Soc Dev**. 2023.v.12, n.12, p.1-10. DOI:10.33448/rsd-v12i12.44427.

TOBOUTI, P.L et al. Influence of melaleuca and copaiba oils on *Candida albicans* adhesion. **Gerodontology**. 2016; v. 33, n.3, p.380-385. DOI:https://doi.org/10.1111/ger.12172.

VEIGA-JUNIOR, V.F; PINTO, A.C. O gênero *Copaifera* L. **Quím. Nova** v.25, n.2, 2002. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000200016.

VEIGA-JUNIOR, V.F; PINTO, A.C; MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura? **Quim Nova**. 2005; v.28, n.3, p.519-528. DOI: https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000300026.

VIEIRA, A.J.H, SANTOS, J.I. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Rev Bras Anal Clin**. 2017;49(3):235-239. DOI:10.21877/2448-3877.201700569.

XAVIER-JUNIOR, F. H. et al. Development of a Gas Chromatography Method for the Analysis of Copaiba Oil. **Journal of chromatographic Science**. 2017. v. 55, n.10, p.969–978. DOI:https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx065

ZAMBONIN, F; LIMA, K. L. B.; MACIEL, J. da C.; DIAS, G. B. . Copaíba (*Copaifera* sp.): uma revisão bibliográfica sobre suas propriedades terapêuticas. **Revista Saúde & Diversidade**, [S. l.], v. 3, n. 1, p. 58–64, 2019. DOI: https://revista.ufr.br/hd/article/view/7423.