



IPG Politécnico
da Guarda
Polytechnic
of Guarda

RELATÓRIO DE ESTÁGIO

Licenciatura em Farmácia

Relatório Profissional I I

Marta Filipa Godinho Maia

julho | 2015





Escola Superior de Saúde

Instituto Politécnico da Guarda

RELATÓRIO DE ESTÁGIO

MARTA FILIPA GODINHO MAIA

RELATÓRIO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE LICENCIADO EM FARMÁCIA

julho | 2015



Escola Superior de Saúde

Instituto Politécnico da Guarda

CURSO DE FARMÁCIA – 1.º CICLO

4.º ANO / 2.º SEMESTRE

RELATÓRIO DE ESTÁGIO PROFISSIONAL II
ESTÁGIO EM INVESTIGAÇÃO CIENTÍFICA

MARTA FILIPA GODINHO MAIA

SUPERVISORA: DOCENTE SANDRA CRISTINA ESPÍRITO SANTO VENTURA

ORIENTADORA: DOCENTE PAULA COUTINHO

julho | 2015

ABREVIATURAS

% - por cento

°C – graus Celsius

ml – mililitro

µl – microlitro

rpm – rotação por minuto

TPP – Tripolifosfato de sódio

SIGLAS

CPIRN – Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais

ESS – Escola Superior de Saúde

IPG – Instituto Politécnico da Guarda

TF – Técnico de Farmácia

UC – Unidade Curricular

UDI – IPG - Unidade de Investigação para o Desenvolvimento do Interior

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, o meu Pai que me acompanha e fortalece todos os dias da minha vida, que me suporta com a Sua mão protetora e me ajuda em todos os momentos.

Seguidamente, agradeço aos meus pais Fernanda e João, pelo amor, ensinamentos, valores e princípios que me transmitiram ao longo da vida, pelo incentivo e coragem que evidenciaram ao longo deste percurso, e pela sua presença e apoio incondicional nos momentos mais difíceis. E ainda, por continuarem a acreditar sempre em mim e nas minhas capacidades, mesmo quando eu própria delas duvido.

Ao meu irmão Daniel, agradeço o companheirismo, amizade e apoio, por todos os nossos momentos, e pelo seu abraço e palavras de consolo quando nem tudo corre bem.

Às amigas Raquel Ana, Sara Pires e Ana Rodrigues agradeço todas as gargalhadas, companheirismo, apoio e suporte prestado quer nos bons momentos, quer nos mais difíceis, e pelo seu abraço amigo nestes últimos.

Também dirijo agradecimentos a toda a equipa envolvida neste estágio e aos docentes da Escola Superior de Saúde. Todos contribuíram com profissionalismo e disponibilidade para o esclarecimento de dúvidas, transmissão de conhecimentos e prestação de apoio e atenção.

À Escola Superior de Saúde agradeço por me ter dado a oportunidade de realizar o estágio nas suas instalações.

A todos o meu muito obrigado.

PENSAMENTOS

Escolhe um trabalho de que gostes, e não terás que trabalhar nem um dia na tua vida.

(Confúcio)

O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário.

(Albert Einstein)

A ciência? Ao fim e ao cabo, o que é ela senão uma longa e sistemática curiosidade?

(André Maurois)

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Cronograma das atividades a desenvolver.	14
Tabela 2 - Constituintes das gábulas de <i>Juniperus communis</i>	17
Tabela 3 - Constituintes das cascas de <i>Juniperus communis</i>	18
Tabela 4 - Pomadas com Óleo Essencial incorporado com o excipiente Vaselina.	37
Tabela 5 - Pomadas com Óleo Essencial incorporado com o excipiente Lanolina.	38
Tabela 6 - Pomadas com Micropartículas incorporadas com o excipiente Vaselina.	39
Tabela 7 - Pomadas com Micropartículas incorporadas com o excipiente Lanolina.	40
Tabela 8 - Resultados da Determinação Potenciométrica do pH.	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Montagem do equipamento para a hidrodestilação de <i>Juniperus communis</i>	25
Figura 2 - Preparação de pomada de vaselina por espatulação.	26
Figura 3 - Preparação de pomada de lanolina por espatulação.	26
Figura 4 - Micropartículas após centrifugação (esquerda) e após remoção do sobrenadante (direita). Estas micropartículas foram incorporadas nas pomadas.	28
Figura 5 - Microscópio Ótico Composto e Controlo de Qualidade realizado às Micropartículas de <i>Thymus mastichina</i>	30
Figura 6 - Determinação Potenciométrica do pH através da técnica de Fiedler.	33
Figura 7 - Determinação da Viscosidade com Viscosímetro.	34
Figura 8 - Determinação da Consistência com Texturómetro.	35
Figura 9 - Determinação da Espalhabilidade com Texturómetro.	35
Figura 10 - Micropartículas de <i>Thymus mastichina</i> (ampliação 400x).	36

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Determinação da viscosidade para as pomadas de vaselina com óleo essencial incorporado.....	42
Gráfico 2 - Determinação da viscosidade para as pomadas de vaselina com micropartículas de <i>Thymus mastichina</i> incorporadas.	42
Gráfico 3 - Determinação da viscosidade para as pomadas de lanolina com óleo essencial incorporado.....	43
Gráfico 4 - Determinação da viscosidade para as pomadas de lanolina com micropartículas de <i>Thymus mastichina</i> incorporadas.	43
Gráfico 5 - Determinação da consistência para as pomadas de vaselina com óleo essencial incorporado.....	45
Gráfico 6 - Determinação da consistência para as pomadas de vaselina com micropartículas de <i>Thymus mastichina</i> incorporadas.	45
Gráfico 7 - Determinação da consistência para as pomadas de lanolina com óleo essencial incorporado.....	46
Gráfico 8 - Determinação da consistência para as pomadas de lanolina com micropartículas de <i>Thymus mastichina</i> incorporadas.	46
Gráfico 9 - Determinação da espalhabilidade para as pomadas de vaselina com óleo essencial incorporado.....	47
Gráfico 10 - Determinação da espalhabilidade para as pomadas de vaselina com micropartículas de <i>Thymus mastichina</i> incorporadas.....	48
Gráfico 11 - Determinação da espalhabilidade para as pomadas de lanolina com óleo essencial incorporado.....	48
Gráfico 12 - Determinação da espalhabilidade para as pomadas de lanolina com micropartículas de <i>Thymus mastichina</i> incorporadas.....	49

RESUMO

Este relatório trata-se de um importante meio de avaliação do Estágio Profissional II, realizado pela discente Marta Filipa Godinho Maia da Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico da Guarda. Nele são apresentadas informações sobre as atividades executadas pela aluna no decorrer do estágio. Dessas informações, uma parte consta nos objetivos que a discente deve atingir, de forma a concretizar em contexto real a integração das aprendizagens que vão sendo desenvolvidas ao longo do curso, para que o perfil do estudante vá ao encontro das competências necessárias no âmbito da sua formação.

Assim, o estágio teve início com a realização de pesquisa bibliográfica e elaboração das monografias das plantas selecionadas e de um projeto de investigação, seguindo-se a sua execução, no Laboratório 4 da Escola Superior de Saúde e no Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais. Foram executadas as seguintes atividades: hidrodestilação de *Juniperus communis*, preparação de micropartículas com óleo essencial de *Thymus mastichina* incorporado, preparação de pomadas propriamente ditas com óleo essencial de *Thymus mastichina* diretamente incorporado e ainda com incorporação das micropartículas anteriormente preparadas, seguindo-se a realização do controlo de qualidade às formas farmacêuticas preparadas.

As fontes consultadas para a realização deste documento são artigos científicos, livros, aulas teóricas e ainda entrevistas informais realizadas aos docentes da Escola Superior de Saúde.

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	11
1. ESS / CPIRN E OBJETIVOS DE ESTÁGIO	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1. PLANTAS, ÓLEOS ESSENCIAIS E SUA UTILIZAÇÃO NA TERAPÊUTICA	15
2.2. PLANTAS UTILIZADAS NO PROJETO.....	16
2.2.1. Zimbro	16
2.2.2. Bela-luz	19
2.3. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	20
2.4. FORMAS FARMACÊUTICAS SEMI-SÓLIDAS: POMADAS.....	20
2.5. MICROPARTÍCULAS.....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1. MATERIAIS	23
3.2. MÉTODOS E SUA APLICAÇÃO	23
3.2.1. Hidrodestilação de Óleos Essenciais	23
3.2.2. Preparação de Pomadas com Óleo Essencial	25
3.2.3. Preparação de Micropartículas de <i>Thymus mastichina</i>	27
3.2.4. Solução Tampão Acetato de pH 4,6	28
3.2.5. Incorporação de Micropartículas em Formas Farmacêuticas Semi-Sólidas	28
4. CONTROLO DE QUALIDADE	29
4.1. CONTROLO DE QUALIDADE EFETUADO ÀS MICROPARTÍCULAS DE <i>THYMUS MASTICHINA</i>	29
4.2. CONTROLO DE QUALIDADE EFETUADO ÀS FORMAS FARMACÊUTICAS SEMI-SÓLIDAS.....	30
4.2.1. Determinação da Massa	30
4.2.2. Determinação Potenciométrica do pH	31
4.2.3. Determinação da Viscosidade	33
4.2.4. Determinação da Consistência	34
4.2.5. Determinação da Espalhabilidade	35

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO DE RESULTADOS OBTIDOS COM O CONTROLO DE QUALIDADE	36
5.1. RESULTADOS DO CONTROLO DE QUALIDADE DAS MICROPARTÍCULAS DE <i>THYMUS MASTICHINA</i>	36
5.2. RESULTADOS DO CONTROLO DE QUALIDADE DAS FORMAS FARMACÊUTICAS SEMI-SÓLIDAS	37
5.2.1. Determinação da Massa.....	37
5.2.2. Determinação Potenciométrica do pH.....	41
5.2.3. Determinação da Viscosidade.....	42
5.2.4. Determinação da Consistência	44
5.2.5. Determinação da Espalhabilidade	47
CONCLUSÃO	50
BIBLIOGRAFIA	52
ANEXOS	54
ANEXO 1 – PROJETO DE INVESTIGAÇÃO	55
ANEXO 2 – MONOGRAFIA <i>JUNIPERUS COMMUNIS</i>	73
ANEXO 3 – MONOGRAFIA DE <i>THYMUS MASTICHINA</i>	81
ANEXO 4 – EQUIPAMENTOS	86

INTRODUÇÃO

Este relatório foi realizado no âmbito da unidade curricular (UC) Estágio Profissional II, pela estudante Marta Filipa Godinho Maia, aluna do 4.º ano, 2.º semestre do curso de Farmácia – 1.º ciclo, da Escola Superior de Saúde (ESS) do Instituto Politécnico da Guarda (IPG) e serve de instrumento de avaliação. O Estágio foi realizado na ESS, nomeadamente no Laboratório 4 e no Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais (CPIRN), entre os dias 2 de março e 30 de junho de 2015. O referido Estágio contou com a orientação da docente Paula Coutinho e supervisão da docente Sandra Cristina Espírito Santo Ventura, da ESS-IPG.

O Estágio de Integração à Vida Profissional é uma componente da UC de Estágio Profissional II, constituindo uma importante vertente de formação e permitindo ao estudante aprender no seio de uma equipa multidisciplinar de saúde. Atendendo ao carácter predominantemente técnico do curso, cuja área de intervenção é o Medicamento e o Utente/Doente, é de salientar a importância dos estágios na formação do Técnico de Farmácia (TF) enquanto profissional de saúde. ⁽¹⁾

Segundo o estatuto legal da carreira de Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica, o conteúdo funcional do TF engloba o desenvolvimento de atividades no circuito do medicamento, tais como análises e ensaios farmacológicos, interpretação de prescrição terapêutica e de fórmulas farmacêuticas, sua separação, identificação e distribuição, controlo da conservação, distribuição e *stocks* de medicamentos e outros produtos, informação e aconselhamento sobre o uso de medicamentos. Assim, o perfil do TF pressupõe a existência de um profissional competente, ativo, consciente e responsável. ⁽¹⁾

Este estágio visa a integração e autonomia no desempenho das diferentes funções do TF, em que a aprendizagem se desenvolve no contexto real, tendo como principais objetivos educacionais os seguintes: favorecer, em contexto real, a integração das aprendizagens que vão sendo desenvolvidas ao longo do curso, de modo a que o perfil do estudante vá ao encontro das competências necessárias no âmbito da sua formação; e preparar o estudante para dar resposta às exigências da sociedade, promovendo a socialização e integração profissional. ⁽¹⁾

No final da aprendizagem o estudante deverá demonstrar as diferentes competências profissionais do TF nas áreas específicas de atuação, onde decorreu o estágio, nomeadamente as seguintes: capacidade científica e técnica na realização de atividades subjacentes à profissão do TF, no enquadramento das várias áreas de intervenção profissional; aplicar os princípios éticos e deontológicos subjacentes à profissão; desenvolver e avaliar planos de intervenção adequadamente integrados numa equipa multidisciplinar; responder aos desafios profissionais com inovação, criatividade e flexibilidade. ⁽¹⁾

O relatório segue uma estrutura física baseada no Guia de Elaboração e Apresentação de Trabalhos Escritos¹ da ESS e o seu corpo textual apoia-se na reflexão individual sobre a análise e aprendizagem efetuada no percurso de estágio.

¹ Guia de Elaboração e Apresentação de Trabalhos Escritos de 2008 da ESS- IPG.

1. ESS / CPIRN E OBJETIVOS DE ESTÁGIO

A ESS-IPG foi inicialmente criada como Escola de Enfermagem da Guarda em 1965, tendo-se ligado ao IPG em 2001. Em 2005 tornou-se ESS e foi criado o curso de Farmácia. O CPIRN, Centro de Potencial e Inovação de Recursos Naturais, criado em dezembro de 2014, é uma unidade de investigação e desenvolvimento de produtos de saúde da Unidade de Investigação para o Desenvolvimento do Interior (UDI-IPG). É um laboratório equipado com equipamento e material diverso, tais como: microscópios óticos, incubadora de dióxido de carbono, câmara de fluxo laminar, centrífuga, vórtex, agitadores magnéticos com aquecimento, banho-maria, elétrico de pH, balança analítica, texturómetro, viscosímetro, Zeta-sizer e equipamento de cromatografia líquida de alta pressão.

Com o fim de definir quais as atividades a desenvolver e o respetivo objetivo do estágio, foi proposta inicialmente a elaboração de um projeto de investigação (ANEXO 1), no qual deveriam constar estas atividades e objetivos e ainda a fundamentação teórica que as suportasse e a calendarização das atividades.

Definiu-se então que o objetivo do estágio consistiria na elaboração e aperfeiçoamento de uma nova forma farmacêutica semi-sólida de aplicação tópica na pele, incorporando óleos essenciais. Como vetor dos referidos óleos, seriam usadas micro e nanopartículas. O estágio contaria com duas grandes fases, nomeadamente a pesquisa bibliográfica e realização do projeto de investigação, e o trabalho laboratorial. Estas fases iriam dividir-se depois em várias etapas.

As plantas selecionadas foram o *Juniperus communis* (zimbros) e o *Thymus mastichina* (bela-luz). A primeira etapa da primeira fase do projeto consistiu em estudar estas plantas, através da interpretação e análise das respetivas monografias. Para a obtenção de informação acerca destas plantas, bem como da composição dos seus óleos essenciais (a parte da planta que será incorporada nas formas farmacêuticas), efetuou-se uma pesquisa bibliográfica, com consulta das referências em estudos de investigação científica e em livros de especialidade. A segunda etapa consistiu em recolher informação acerca do método de extração do óleo essencial e ainda sobre micro e nanopartículas e a sua incorporação em formas farmacêuticas semi-sólidas.

De seguida, já a nível laboratorial, um dos objetivos foi a extração dos óleos essenciais das plantas selecionadas e sua introdução em nanopartículas ou micropartículas (também preparadas no laboratório). Estas seriam, de seguida, incorporadas numa forma farmacêutica semi-sólida de aplicação tópica na pele, que poderia ser uma pomada ou creme. Após o desenvolvimento galénico, e obtenção da forma farmacêutica, seria a esta realizado o controlo de qualidade.

Assim, as atividades a desenvolver foram as seguintes: caracterização monográfica das plantas selecionadas; extração do óleo essencial das plantas selecionadas; preparação e obtenção de micro/nanopartículas; incorporação do óleo essencial nas micro/nanopartículas; incorporação das micro/nanopartículas numa forma farmacêutica semi-sólida de aplicação tópica na pele; e execução do controlo de qualidade à forma farmacêutica preparada.

Os objetivos mais específicos do estágio seriam a extração do óleo essencial das plantas *Juniperus communis* e *Thymus mastichina*, através de hidrodestilação com aparelho de Clevenger durante três horas com planta seca, e posterior caracterização fitoquímica dos óleos essenciais e incorporação do óleo essencial nas formas farmacêuticas.

Foi definido um cronograma para a realização das atividades (tabela 1).

Tabela 1 - Cronograma das atividades a desenvolver.

Quinzena	Março	Abril	Maio	Junho
Primeira	Pesquisa Bibliográfica	Desenvolvimento		
Segunda		Galénico	Controlo de Qualidade	

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. PLANTAS, ÓLEOS ESSENCIAIS E SUA UTILIZAÇÃO NA TERAPÊUTICA

Perde-se na história o registo do início da utilização das plantas aromáticas e medicinais pelo Homem. Mas tal terá ocorrido, muito provavelmente, quando o Homem reconheceu que cheirar, mascar e/ou comer determinadas plantas aliviava a dor e a náusea e tratava umas quantas enfermidades. As plantas com essas propriedades, e que produziam aromas agradáveis e intensificavam o sabor e o aroma dos alimentos, passaram a ser reconhecidas e apreciadas pelo Homem primitivo, tendo-se, desde logo, estabelecido a associação entre certos alimentos, determinadas plantas e a sensação de bem-estar. Essas espécies, as atuais plantas aromáticas e medicinais, passaram a ser a principal fonte de fármacos, condimentos e conservantes, sendo o conhecimento adquirido sobre os seus poderes “mágicos” transmitido de geração em geração, mesmo antes da era dos registos escritos. ⁽²⁾

Em sentido genérico, consideram-se como plantas medicinais todas aquelas cujo uso pelas populações ao longo dos tempos foi reconhecido pelo seu efeito benéfico para a saúde. À medida que os ensaios farmacológicos de comprovação de atividade e de toxicidade e os estudos clínicos vão sendo executados com plantas medicinais, algumas delas perdem o interesse para a utilização clínica, deixando por isso de estar inscritas nas Farmacopeias. No entanto, outras, ao demonstrarem interesse em terapêutica, passam a ser nelas incluídas. Assim, uma planta adquire o estatuto de “medicinal” quando possui constituintes farmacologicamente ativos que conferem a essa planta a possibilidade de ser usada direta ou indiretamente na terapêutica com benefícios para o tratamento ou prevenção de uma dada patologia. ⁽³⁾

As plantas medicinais são plantas ou partes de plantas inscritas em Farmacopeias oficiais, com emprego justificado na terapêutica, cujas monografias nas Farmacopeias, para além da respetiva identificação macroscópica e microscópica, têm ensaios de pureza e ensaios de identificação e de dosagem do ou dos constituintes ativos mais representativos. ⁽³⁾

Ao longo da evolução as espécies vegetais desenvolveram vias metabólicas que lhes permitem sintetizar uma grande diversidade de metabolitos secundários. Entre esses metabolitos encontram-se alguns compostos de baixo peso molecular que, por serem voláteis e dotados de aroma, são usualmente designados como compostos aromáticos. As plantas que os sintetizam e armazenam em quantidades apreciáveis são, assim, designadas de plantas aromáticas. Esses produtos de metabolismo secundário podem ser encontrados em todos os órgãos das plantas aromáticas e são produzidos e acumulados em estruturas secretoras especializadas, tanto externas (tricomas secretores e omóforos) como internas (idioblastos, canais e bolsas). Na observação microscópica visualizam-se, nestas estruturas, pequenas

gotículas refringentes que resultam da solubilização dos numerosos compostos voláteis acumulados e que, por destilação e/ou expressão, se concretizam em líquidos de aspeto oleoso, voláteis, e por isso designados, de forma comum, por óleos essenciais. ⁽⁴⁾

Os óleos essenciais são considerados, por muitos, como os primeiros fármacos a que o Homem teve acesso, utilizados durante séculos, pelas diversas gerações e que, no seu tempo, foram considerados mais valiosos do que o próprio ouro. ⁽²⁾

Os óleos essenciais (também designados por essências) são misturas complexas de inúmeros compostos voláteis, responsáveis pelas propriedades odoríferas e por outras características próprias das plantas aromáticas e pelo interesse do Homem por essas plantas. São arrastáveis pelo vapor de água, muito pouco solúveis em água e solúveis nos solventes orgânicos. Os óleos essenciais devem a sua atividade biológica particularmente à natureza química e percentagem dos seus constituintes. Este facto explica e contribui para os diversos tipos de utilização. ^(2,4,5)

O número e a diversidade de constituintes dos óleos essenciais conduzem a uma atividade farmacológica que se manifesta de modos diferentes no organismo humano. Esses óleos e as plantas que os contêm são designados por fármacos aromáticos, quando possuem atividades farmacológicas que justificam a sua inclusão nas Farmacopeias. Na farmácia e na indústria farmacêutica muitos óleos essenciais vão ser usados como medicamentos, tanto para uso interno como para uso externo, ou incluídos como corretores do aroma e do sabor em medicamentos. Assim, produtos medicamentosos contendo óleos essenciais são empregues nos cuidados primários de saúde ou diretamente na aromaterapia. ^(2,4,6)

2.2. PLANTAS UTILIZADAS NO PROJETO

As plantas selecionadas para desenvolver este projeto foram o zimbro (*Juniperus communis*) e a bela-luz (*Thymus mastichina*). De seguida, será realizada uma descrição destas plantas, para que se possa proceder ao seu estudo e conhecimento das suas características.

2.2.1. Zimbro

A monografia desta planta (ANEXO 2) contém várias informações acerca da mesma, sendo essas agora detalhadas.

O zimbro corresponde à espécie *Juniperus communis*, e pertence à família *Cupressaceae*. Em Portugal, é conhecido vulgarmente pelos nomes junípero, zimbreiro, zimbro-comum. ^(5,7,8)

O zimbro é uma pequena árvore ou arbusto de um a três metros. A sua frutificação é uma gálbula baciforme, de maturação bienal ou trienal, verde no primeiro ano, depois pruinoso e negro na maturação. ^(6,7) As gálbulas devem ser colhidas quando maduras, de outubro a novembro. Deve-se deixar secar ao ar, de preferência abrigado da luz, ou com secador com ventilação forçada a temperatura não superior a 30 °C. ⁽⁷⁾

As partes das plantas utilizadas são as gálbulas maduras, cascas do tronco, de ramos e de raízes e óleo essencial. ^(5,8) Os constituintes das gálbulas e das cascas são os que se apresentam nas tabelas 2 e 3. ^(2,5,6,7,8,9)

Tabela 2 - Constituintes das gálbulas de *Juniperus communis*.

Gálbulas	
1 a 3 % de óleo essencial	55% de monoterpenos: α-pineno β-pineno canfeno sabineno limoneno terpineol borneol geraniol
	Sesquiterpenos: β-elemento cariofileno cadinenos
	Fenóis
	Ésteres
Constituinte amargo (juniperina)	
Resina	
Lípidos (cerca de 10%)	
Glicéridos de ácidos gordos diversos	
Diterpenos	
Oses (glucose e frutose)	
Taninos hidrolisáveis	
Flavonóides	

Tabela 3 - Constituintes das cascas de *Juniperus communis*.

Cascas
Diterpenos
Sesquiterpenos
Taninos hidrolisáveis (3 a 5%)
Procianidinas oligoméricas
Linhanos (6 a 10%)
Fitosteróis (estigmasterol)
Leucoantocianinas

As principais propriedades medicinais do zimbro relacionam-se com a sua essência. Usando o óleo essencial das gálbulas, o zimbro tem um efeito diurético, antisséptico, digestivo e expetorante. O constituinte amargo torna-as um digestivo. As gálbulas são ainda usadas em casos de falta de apetite, em afeções urinárias e bronquite. Externamente, em formas farmacêuticas semi-sólidas, o óleo é rubefaciente e antimicótico, e é ainda usado em inflamações reumáticas. ^(5,7)

As cascas são usadas como depurativo, diurético, diaforético e antioxidante. Externamente, usa-se em inflamações orofaríngeas, em banhos, nas dores reumáticas, no tratamento do reumatismo e afeções dermatológicas e como venoprotector. ^(5,7)

Relativamente à atividade biológica sobre o tecido cutâneo, o óleo essencial das gálbulas é rubefaciente e antimicótico. As gálbulas pelos taninos têm ação adstringente. ⁽⁸⁾

As suas principais indicações são em infeções e litíase do aparelho excretor urinário, pela ação diurética, e ainda na anorexia. ⁽⁵⁾

As principais aplicações cosméticas e dermatológicas são em loções com 1% de tintura obtida de gálbulas, usadas em peles oleosas e com acne. O óleo essencial é aplicado em formulações dermatológicas, nas dermatomicoses. ⁽⁸⁾

O zimbro apresenta algumas contra-indicações. O óleo essencial não deve ser usado durante a gravidez (pode ter um efeito oxitócico), na aleitação, em crianças, em doentes com problemas neurológicos, insuficiência cardíaca ou em nefropatia. ⁽⁵⁾

Quanto aos efeitos secundários e toxicidade, em uso prolongado ou sobredosagem, principalmente, o óleo essencial é nefrotóxico, podendo aparecer albuminúria e hematuria. O uso prolongado de loções, particularmente em peles sensíveis, é irritante. ^(5,8)

Deve ter-se a precaução de não prolongar o uso de preparações de gálbulas para além de seis semanas. ⁽⁵⁾

Algumas curiosidades e usos tradicionais, indicam que o zimbro é um arbusto de folha persistente, utilizado como planta ornamental. Na Idade Média, era queimado para afastar a peste e também porque se considerava detentor de poderes protetores contra espíritos malignos. As bagas de zimbro são utilizadas na confecção de molhos e pratos de carne, facilitando a sua digestão e, ainda, aromatização de licores. Popularmente, é referenciado para evitar diarreias e flatulência, dado que o seu óleo é desinfetante e elimina bactérias intestinais indesejáveis; é também indicado para o ácido úrico e dores generalizadas. ⁽¹⁰⁾

Face às indicações terapêuticas que o óleo essencial desta planta possui, quando aplicado de forma tópica na pele, adquire importância veicular o óleo em formas farmacêuticas semi-sólidas, tendo sido por este motivo escolhido para este projeto.

2.2.2. Bela-luz

A monografia desta planta (ANEXO 3) contém várias informações acerca da mesma, sendo essas agora detalhadas.

A bela-luz corresponde à espécie *Thymus mastichina*, e pertence à família *Lamiaceae*. Em Portugal, é conhecida vulgarmente pelos nomes amor-de-deus, bela-luz, cabeças de homem, manjerona-brava, manjerona-de-espanha e sal-puro. ^(2,10)

O seu período de colheita decorre de abril a junho e todas as partes da planta são utilizadas. ⁽¹⁰⁾

A bela-luz apresenta polimorfismo químico, sendo o cineol, o limoneno e o α -terpineol os compostos que predominam no óleo essencial. ⁽²⁾

Como usos e virtudes medicinais a bela-luz apresenta propriedades calmante e descongestionante. Apresenta várias formas de administração, sendo que externamente, deve-se gargarejar a infusão para promover o alívio de inflamações da boca e da faringe. As fricções, compressas e banhos são utilizados para casos de reumatismo e inchaços. ⁽¹⁰⁾

Como curiosidades e usos tradicionais, poderá referir-se que a bela-luz é uma planta aromática, medicinal e condimentar. Não passa despercebida pelo seu aroma, especialmente em dias quentes, quando o odor forte do seu óleo se espalha no ar. Esta espécie é muito utilizada como substituto do sal na cozinha. ⁽¹⁰⁾

Face às indicações terapêuticas que o óleo essencial desta planta possui, quando aplicado de forma tópica na pele, adquire importância veicular o óleo em formas farmacêuticas semi-sólidas, tendo sido por este motivo escolhido para este projeto.

2.3. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Os óleos essenciais são obtidos das plantas através de métodos de extração. A tecnologia mais habitual e mais antiga que é usada é a hidrodestilação. Nesta, a extração dos compostos voláteis é realizada por arrastamento pelo vapor de água obtido em gerador apropriado, seguida de passagem do vapor por um condensador, o que origina a sua transformação da fase gasosa em líquido, que em recipiente “tipo florentino”, por ação da gravidade, separa a fase aquosa do óleo essencial. O destilado é assim constituído por óleo essencial e por água aromatizada (hidrolato da planta ou água floral), pois há sempre uma pequena percentagem de compostos do óleo essencial que nela se dissolvem. A vantagem da água é que é imiscível na maioria das moléculas dos óleos essenciais e, após condensação, os óleos essenciais podem ser separados facilmente da água por decantação. No entanto, este método apresenta desvantagens, nomeadamente, o elevado tempo de extração, alterações químicas das moléculas terpénicas por contato prolongado com água a ferver (hidrólise) e sobreaquecimento e perda de algumas moléculas polares na extração aquosa. ^(2,11)

Outro método de extração também usado é a extração por solventes orgânicos, em que a planta é macerada num solvente orgânico e o extrato é concentrado removendo o solvente a baixa pressão. ⁽¹¹⁾

2.4. FORMAS FARMACÊUTICAS SEMI-SÓLIDAS: POMADAS

As pomadas e os óleos contendo constituintes de plantas possivelmente foram as formas farmacêuticas mais antigas usadas em cosmética. ⁽⁸⁾

As pomadas são formas farmacêuticas de consistência mole, destinadas a serem usadas externamente, para ação tópica ou geral e também com fins de proteção ou lubrificação. ⁽¹²⁾

Durante muitos anos estas preparações eram exclusivamente obtidas à custa da incorporação de diversas drogas em excipientes gordos, os quais, quando aplicados na pele, sofriam uma progressiva liquefação. Com o decorrer dos tempos este conceito foi-se modificando e, atualmente, além dos excipientes gordurosos, utilizam-se bases dermatológicas, em regra com consistência semelhante mas com diferente composição e aspeto. Assim, é corrente o uso de emulsões com elevado teor de água, de excipientes inteiramente lipófilos e até de produtos com características físicas semelhantes às das gorduras, mas que delas diferem quimicamente. Esta heterogeneidade de composição química dos excipientes das pomadas, aliada à propriedade de apresentarem uma consistência mais ou menos uniforme, levou Munzel a defini-las como geles plásticos destinados à aplicação cutânea, conceito este aceite por muitos outros autores. ⁽¹²⁾

As pomadas podem, portanto, ser consideradas como geles de consistência mole, dotados de propriedades plásticas que permitem, mediante um esforço mecânico mínimo, que a sua forma se modifique, adaptando-se às superfícies da pele ou às paredes das cavidades mucosas onde se aplicam. A estas características deve-se associar o facto de se comportarem como geles termorreversíveis, pois a sua viscosidade diminui com o aumento da temperatura, o que acontece quando ficam em contacto com a pele ou com as superfícies mucosas do corpo. Por outro lado, a estas propriedades está ligado o comportamento tixotrópico, já que logo que cessa a deslocação das diferentes camadas de uma pomada durante a sua aplicação a sua consistência retoma valores próximos dos normais. Daqui resulta que as pomadas terão de possuir uma certa adesividade que as mantém fixas no local da aplicação, o que se deve, em última análise, à viscosidade dos constituintes dos seus excipientes. ⁽¹²⁾

Os excipientes utilizados no projeto foram a vaselina branca e a lanolina, tendo sido efetuadas pomadas propriamente ditas.

A vaselina é um excipiente hidrófobo ou gorduroso, que praticamente não possui qualquer capacidade de retenção de água. A vaselina consiste numa mistura purificada e inteiramente ou quase inteiramente descolorada, de hidrocarbonetos semi-sólidos, obtidos a partir do petróleo; pode ainda conter um antioxidante apropriado. A vaselina branca apresenta-se com o aspeto de uma massa branca ou quase branca, translúcida, de consistência untosa e ligeiramente fluorescente à luz do dia quando fundida. É praticamente insolúvel na água, no álcool e na glicerina e solúvel no cloreto de metileno. A sua densidade, a 60 °C, varia entre 0,815 e 0,865 e o ponto de fusão está compreendido entre 30 °C e 60 °C, mais vulgarmente entre 38 °C e 54 °C. ^(9,12)

A lanolina é um excipiente aquo-oleoso, que possui capacidade de absorção de água ou de soluções aquosas. Este excipiente apresenta-se como uma substância amarela de consistência untuosa. Fundida, a lanolina é um líquido amarelo, límpido ou quase límpido. A solução da lanolina no éter de petróleo é opalescente. É praticamente insolúvel na água e pouco solúvel no etanol fervente. A lanolina apresenta um cheiro característico. Apresenta ainda elevada viscosidade. ^(9,12)

2.5. MICROPARTÍCULAS

Atualmente, os novos sistemas terapêuticos para libertação de medicamentos libertam o fármaco encaminhando-o para um órgão, tecido, célula (ou recetor específico), possibilitando-lhe o exercício da sua atividade farmacológica com o mínimo de efeitos secundários. A vectorização medicamentosa é complexa, dado que é necessário ultrapassar numerosas

barreiras anátomo-fisiológicas sem que o vetor nelas seja retido, passar por meios hostis química, biológica ou fisicamente, para que se atinja a célula patológica ou mesmo algum dos seus componentes. ⁽¹²⁾

Um vetor medicamentoso muito utilizado são as micropartículas, isto é, partículas de dimensões à escala micrométrica. Estas podem ser divididas ainda em microcápsulas e microsferas. As microcápsulas têm dimensões de poucas centenas de micrómetros e apresentam uma cavidade central que contém o fármaco, sendo revestidas por um invólucro. As microsferas são partículas de formato esférico em que o fármaco se encontra dissolvido ou suspenso no seio de uma matriz. ⁽¹²⁾

O uso de micropartículas com óleos essenciais é uma técnica importante que oferece proteção contra a oxidação dos componentes ativos e reduz a volatilidade do óleo essencial. ⁽¹³⁾

As micropartículas podem ser obtidas através de diferentes polímeros, entre eles o quitosano, que foi o escolhido neste projeto, para incorporar os óleos essenciais. O quitosano é um polímero natural biodegradável, biocompatível e não tóxico e tem grande potencial para aplicação farmacêutica como veículo de fármacos e portador de enzimas terapêuticas. As propriedades físicas e químicas do quitosano tornam este polímero atrativo para a encapsulação de óleos essenciais. É um polissacárido linear natural, obtido por desacetilação alcalina de quitina, que é um componente do exosqueleto dos crustáceos. O quitosano é solúvel em condições ácidas. Estruturalmente é um polissacárido linear constituído por unidades repetidas de β - (1-4) -2-amino-2-desoxi-D-glucopiranosose (D-glucosamina), e tem os grupos amina livres nas suas cadeias poliméricas. Estes grupos definem o seu carácter catiónico que determina as suas principais propriedades, nomeadamente, a libertação controlada para substâncias aniónicas, propriedades mucoadesivas e propriedades de gelificação *in situ*. ⁽¹⁴⁾

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. MATERIAIS

Para a execução das atividades laboratoriais foram utilizados diversos materiais, nomeadamente os seguintes aparelhos (ANEXO 4): viscosímetro, texturómetro, centrífuga, microscópio e câmara incorporada, eléctrodo de pH, balança analítica, agitador magnético com aquecimento, banho-maria, temporizador, vórtex e micropipetas de várias capacidades. Usou-se ainda material como espátulas, pórfito, papel vegetal, papel de filtro, vareta de vidro, magnetes, golebés de várias capacidades, provetas, funis, kitasato, aparelho de Clevenger, copos com tampa, tubos falcon, pipetas Pasteur, entre outros.

Os reagentes utilizados foram os seguintes: água destilada, etanol a 70% (Manuel Vieira e C^a (Irmão), Torres Novas), Tween 20, quitosano e tripolifosfato de sódio (TPP) (Acros Organics, Nova Jérсия), parafina líquida (José Manuel Gomes dos Santos, Portugal), ácido láctico, sulfato de sódio anidro em pó, glutaraldeído e lanolina (Acofarma, Barcelona), acetato de sódio (Prolabo - VWR, EUA), ácido acético (Poch, Espanha), etanol absoluto (Applichem Panreac, Barcelona), óleo essencial de *Thymus mastichina* (Planalto Dourado, Portugal), *nonaethylene glycol monododecyl ether* (Sigma, Japão), vaselina (Vencilab, Portugal).

3.2. MÉTODOS E SUA APLICAÇÃO

3.2.1. Hidrodestilação de Óleos Essenciais

A extração dos óleos essenciais efetua-se por arrastamento pelo vapor de água, num aparelho especial (aparelho de Clevenger) e nas condições que a seguir se precisam. O destilado é recolhido num tubo graduado, na presença de xileno para fixar o óleo essencial, enquanto a fração aquosa volta, automaticamente, ao balão gerador de vapor.⁽⁹⁾

Segundo a Farmacopeia Portuguesa VIII, o aparelho compreende um balão apropriado de fundo redondo, de colo curto esmerilado, tendo um diâmetro interior de cerca de 29 mm na extremidade mais larga; um aparelho de condensação que se adapta perfeitamente ao balão, formado pelas seguintes peças de vidro de baixa dilatação térmica: a rolha oca e a tubuladura de 10 mm de diâmetro interior na parte mais larga do tubo esmerilado, tendo um orifício com cerca de 1 mm de diâmetro, na zona correspondente à parte oca; o tubo graduado dividido em 0,01 ml e com duas marcas acima da graduação; uma dilatação de 3 ml; a dilatação em forma de esfera, com a capacidade aproximada de 2 ml; a torneira de três vias e a junção a um nível

superior de 20 mm acima da graduação; um dispositivo de aquecimento apropriado permitindo uma regulação precisa; um suporte vertical com um anel horizontal coberto com um material isolante. ⁽⁹⁾

Deve utilizar-se um aparelho perfeitamente limpo e proceder ao doseamento segundo a natureza da planta em ensaio. No balão introduz-se o volume de líquido indicado para o arrastamento pelo vapor e alguns fragmentos de material poroso. Adapta-se ao balão o aparelho de condensação. Deita-se água pelo tubo de enchimento até aflorar na junção. Tira-se a rolha e introduz-se a quantidade prescrita de xileno com uma pipeta, levando até ao extremo do tubo. Volta-se a colocar a rolha, verificando que os dois orifícios coincidem. Aquece-se o líquido do balão até ao começo da ebulição e destila-se à velocidade de 2 a 3 ml por minuto, salvo indicação em contrário. ⁽⁹⁾

Ao iniciar a hidrodestilação, foi realizado um ensaio prévio com *Lavandula stoechas*, da família *Lamiaceae*. Esta é conhecida pelos nomes vulgares de cabeçuda, rosmaninho ou arçã. Surge em matos xerófilos colonizadores, por vezes dominante (rosmaninhais); em clareiras ou sob coberto de azinhal, sobreiral, carvalhal ou pinhal; e em locais expostos e secos, preferentemente em substratos pobres, siliciosos e ácidos ou neutros. Esta planta pode ser utilizada sob a forma de infusão no combate a constipações, tosse, digestões difíceis, urticária, dores de cabeça, problemas de coração e dores menstruais; em uso externo, a água da decocção das flores é utilizada para evitar a queda de cabelo, na lavagem de feridas e na preparação de unguentos para relaxamento muscular e alívio de dores reumáticas. ^(15,16)

Após a realização deste teste, e tendo-se verificado que seria efetivamente possível realizar a hidrodestilação das plantas em estudo, aplicou-se a técnica à planta *Juniperus communis* (figura 1).

Para efetuar a hidrodestilação, deve ter-se em conta que o volume de água deve ser no mínimo dez vezes superior ao peso vegetal. Assim, foram usadas quinze gramas de planta em cento e cinquenta mililitros de água, pois através de experimentação verificou-se que foi com esta relação que se obtiveram os melhores resultados. Para facilitar a ebulição da água e a manutenção do calor, o balão de fundo redondo foi revestido a papel de alumínio, tendo-se verificado que o início da obtenção de destilado era assim mais rápido.



Figura 1 - Montagem do equipamento para a hidrodestilação de *Juniperus communis*.

A Farmacopeia propõe o uso de xileno para fixar o óleo essencial, como anteriormente referido, contudo este não foi utilizado pois não se pretendiam alterar as propriedades do óleo.

A hidrodestilação de *Juniperus communis* no laboratório foi um processo moroso, demorando entre cinco a sete horas e não obtendo os resultados pretendidos. A quantidade de óleo essencial obtida foi escassa, e não pura, pois continha água misturada, já que o seu odor era muito suave e deveria ser bastante forte e característico. No final da destilação, experimentou-se utilizar sulfato de sódio anidro com a finalidade de reter a água, contudo este revelou-se ineficaz.

Assim, optou-se por não utilizar este destilado para incorporação nas formas farmacêuticas nem nas micropartículas. Não foi realizada hidrodestilação da planta *Thymus mastichina*, tendo prosseguido o projeto com a utilização deste óleo essencial obtido comercialmente.

3.2.2. Preparação de Pomadas com Óleo Essencial

A preparação de pomadas com óleos essenciais seria desenvolvida tendo como base uma adaptação da seguinte técnica descrita por Prista et al.: efedrina (1g), carbopol 934 (1g), óleo essencial de *Thymus mastichina* (0,1ml), salicilato de metilo (0,01 ml), álcool (2g) e água destilada (96g).⁽¹²⁾

Assim, este protocolo sofreu alterações. Como se pretende que o óleo essencial seja o componente ativo da pomada, foram retirados os outros componentes (efedrina, carbopol, salicilato de metilo, álcool e água destilada).

Assim, foram realizadas pomadas usando como veículos a vaselina (figura 2) e a lanolina (figura 3), e como substância ativa o óleo essencial de *Thymus mastichina*, numa concentração de 0,1 por cento (massa/volume). Ou seja, foram incorporados vinte microlitros de óleo essencial em vinte gramas de veículo. Foram preparadas nove amostras por cada formulação, tendo sido efetuados ensaios de estabilidade em triplicado para cada ensaio (n=3), em três pontos distintos de estabilidade.



Figura 2 - Preparação de pomada de vaselina por espátulação.

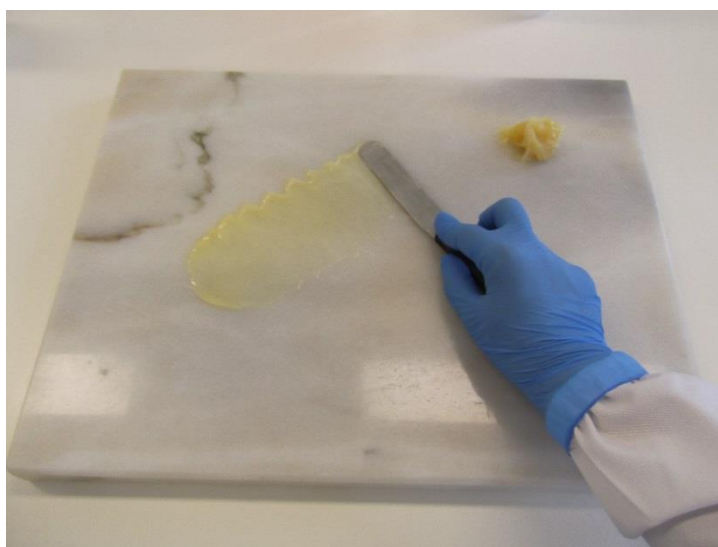


Figura 3 - Preparação de pomada de lanolina por espátulação.

3.2.3. Preparação de Micropartículas de *Thymus mastichina*

Como método base para a preparação das micropartículas, seguiu-se o protocolo segundo os autores Pecarski1 et al. que descreve a produção de micropartículas de quitosano com óleo essencial encapsulado através do método de emulsificação cross-linking. ⁽¹⁴⁾

Na adaptação do método referido foram preparadas as partículas da seguinte forma: 10 ml de solução de quitosano a 1% em 1,65% de ácido láctico foram adicionados a 50 ml de solução de parafina líquida com óleo essencial de *Thymus* e 2% de Tween 20, como surfactante resultando numa formulação água/óleo. As fases foram misturadas num agitador magnético (por sessenta minutos), para o preparado se tornar homogéneo. Após isto, 1 ml de glutaraldeído, como agente reticulante, foi adicionado, ficando a homogeneizar em agitador magnético por sessenta minutos, e as micropartículas foram espontaneamente formadas. As micropartículas resultantes são recolhidas por centrifugação, durante dez minutos a 4000 rpm. O sobrenadante é separado. A fase sólida remanescente contém micropartículas, e estas são sequencialmente lavadas com 175 ml de solução Tween a 1%, depois com 80 ml de etanol e finalmente com 75 ml de água destilada. O etanol tem a função de remover qualquer componente polar que não tenha sido encapsulado. O volume de conteúdo separado é medido. A massa das partículas é medida numa balança analítica. As micropartículas para imagem ao microscópio são armazenadas em tampão acetato, de pH 4,6, em recipiente regular. ⁽¹⁴⁾

Este protocolo sofreu várias alterações e otimizações, por forma a obterem-se micropartículas com a melhor qualidade possível.

Numa primeira fase, foram utilizados 150 µl de óleo essencial e substituiu-se o glutaraldeído por TPP. As soluções de lavagem usadas foram Tween 20 a um por cento, etanol absoluto e água destilada. Observou-se a obtenção de pequena quantidade de partículas, sendo que estas não pareciam corresponder a micropartículas, mas sim a uma rede de partículas.

Numa segunda fase, utilizaram-se 50 µl de óleo essencial, substituiu-se o glutaraldeído por TPP, e o Tween 20 por *nonaethylene glycol monododecyl ether*. As soluções de lavagem usadas foram *nonaethylene glycol monododecyl ether* a um por cento, etanol absoluto e água destilada. Observou-se novamente a obtenção de pequena quantidade de partículas, sendo que estas pareciam não ter muita qualidade.

Numa terceira fase, utilizaram-se 50 µl de óleo essencial, usou-se o glutaraldeído como agente surfactante, e substituiu-se o Tween 20 por *nonaethylene glycol monododecyl ether*. Deixou-se a homogeneizar por sessenta minutos em agitador, no entanto, após adição do glutaraldeído, a preparação esteve em agitação por cem minutos. As soluções de lavagem usadas foram *nonaethylene glycol monododecyl ether* a um por cento, etanol absoluto e água destilada. Foi nesta fase que se observou a obtenção de micropartículas de melhor qualidade e

em maior quantidade (figura 4), tendo sido as micropartículas desta fase aquelas que foram incorporadas na forma farmacêutica semi-sólida.

É ainda importante referir que o tampão acetato serve apenas para reter o óleo essencial nas micropartículas até serem analisadas por microscopia, pois não funciona como conservante e ao fim de alguns dias, as micropartículas perdem a estabilidade. As micropartículas preparadas são então armazenadas em frigorífico e sem qualquer adição de outro reagente ou conservante.

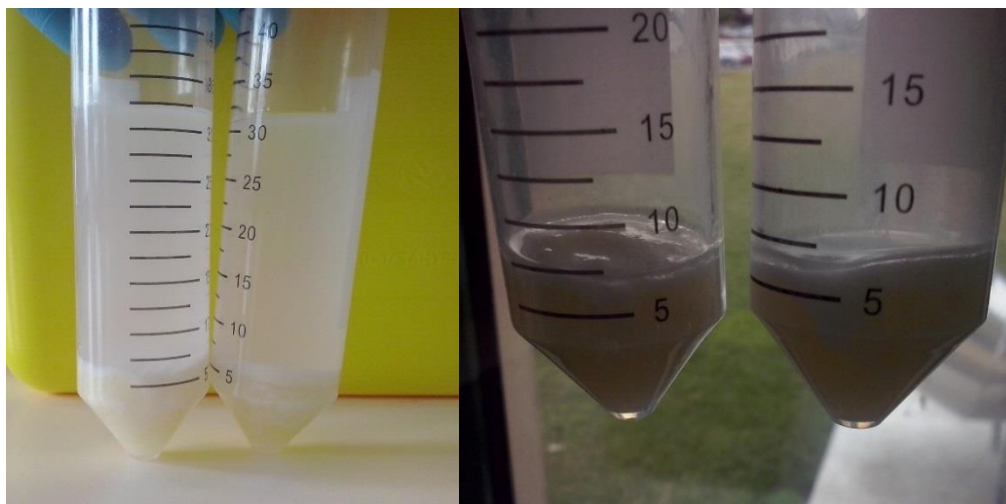


Figura 4 - Micropartículas após centrifugação (esquerda) e após remoção do sobrenadante (direita). Estas micropartículas foram incorporadas nas pomadas.

3.2.4. Solução Tampão Acetato de pH 4,6

Esta solução foi preparada como recomenda a Farmacopeia Portuguesa, ou seja, dissolvendo 5,4 gramas de acetato de sódio em 50 mililitros de água destilada. De seguida, juntam-se 2,4 gramas de ácido acético glacial e completa-se até aos 100 mililitros com água destilada. Se for necessário, ajusta-se o pH.

3.2.5. Incorporação de Micropartículas em Formas Farmacêuticas Semi-Sólidas

O protocolo seguido para a incorporação de micropartículas nas pomadas consistiu em incorporar 0,20 gramas de micropartículas em 20 gramas de excipiente, por forma a obterem-se pomadas com concentração de um por cento. Todas as pomadas foram preparadas de acordo com a técnica de espatulação requerida para a preparação deste tipo de forma farmacêutica e o aspeto geral da pomada após preparação foi um aspeto homogéneo, sendo que na vaselina as micropartículas ficam totalmente dispersas e invisíveis a olho nu, mas na lanolina ficam suspensas, apesar da homogeneidade.

4. CONTROLO DE QUALIDADE

Após a preparação das pomadas (quer com incorporação de óleo essencial, quer com a incorporação de micropartículas), estas são sujeitas a ensaios de controlo de qualidade. As pomadas, na sua verificação, sofrem avaliação de pH, determinação da consistência, determinação da viscosidade, determinação do índice de água, ensaios de cedência e difusão e identificação e dosagem dos princípios ativos. ⁽¹²⁾ As micropartículas podem ser analisadas através de microscopia ótica. ⁽¹¹⁾

As micropartículas foram analisadas através de microscopia ótica e as pomadas foram analisadas através do ensaio de massa, determinação do pH, viscosidade, consistência e espalhabilidade. De seguida, será explicado em que consiste cada um destes ensaios.

4.1. CONTROLO DE QUALIDADE EFETUADO ÀS MICROPARTÍCULAS DE *THYMUS MASTICHINA*

O controlo de qualidade realizado às micropartículas foi executado com o recurso a microscopia ótica. ⁽¹¹⁾

O microscópio é um instrumento ótico destinado à observação de objetos de dimensões muito pequenas, da ordem de grandeza do micron (10^{-6} metros). Consiste num sistema de lentes que produz uma imagem virtual ampliada de um objeto pequeno. É constituído por uma objetiva e uma ocular montadas num tubo com cerca de quinze centímetros de comprimento; a objetiva e a ocular são em geral formadas por sistemas de lentes, de modo a tornar o microscópio tanto quanto possível um sistema estigmático. A objetiva dá uma imagem real do objeto. Esta imagem pode ser observada diretamente desde que o observador se coloque a uma distância dela não inferior ao mínimo de visão distinta, ou então pode ser observada através da ocular que afinal vai servir de lupa. ^(17,18)

O microscópio composto, inventado por volta de 1590 por Zacharias Janssen, fornece alta ampliação angular para objetos próximos. Consiste em duas lentes convergentes designadas objetiva e ocular. O produto dos valores referidos nas objetivas e nas oculares revela imediatamente a ampliação do conjunto usado no exame microscópico. Os microscópios compostos modernos têm oculares binoculares e múltiplas objetivas. A imagem formada pelas lentes objetivas é real, muito longe das lentes e muito ampliada. Esta imagem é ampliada pela ocular numa imagem muito grande e virtual, que é vista pelo olho e invertida. ^(18,19,20,21)

Esta técnica é importante no controlo de qualidade pois permite observar e avaliar as micropartículas preparadas, e verificar se as mesmas contêm o óleo essencial incorporado, que é o que se pretende.

Assim, foi possível observar e comprovar que as partículas preparadas realmente se tratavam de micropartículas e ainda fotografar a imagem obtida, através de câmara fotográfica incorporada no microscópio (figura 5). Essas fotografias serão apresentadas no capítulo referente aos resultados obtidos.

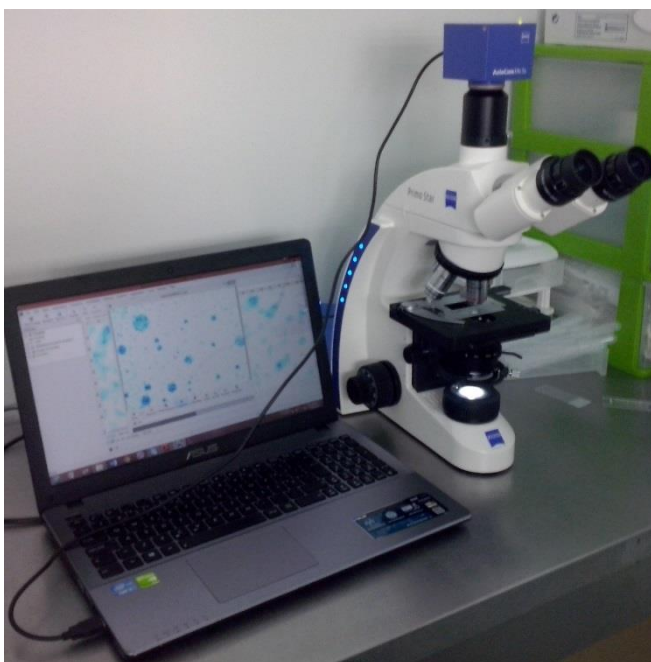


Figura 5 - Microscópio Ótico Composto e Controle de Qualidade realizado às Micropartículas de *Thymus mastichina*.

4.2. CONTROLO DE QUALIDADE EFETUADO ÀS FORMAS FARMACÊUTICAS SEMI-SÓLIDAS

As formas farmacêuticas semi-sólidas preparadas, nomeadamente as pomadas, tiveram o seu controlo de qualidade efetuado através de ensaios de massa, pH, viscosidade, consistência e espalhabilidade. Foram efetuados três pontos de referência para estes ensaios de estabilidade, nomeadamente aos três, cinco e vinte dias.

De seguida, será realizada uma abordagem aos ensaios realizados.

4.2.1. Determinação da Massa

O instrumento usado para medir a massa foi a balança analítica, a operação é designada de pesagem e faz-se referência ao peso do objeto ou do material que é pesado. O peso de um objeto é a força de atração devida à gravidade exercida sobre ele, nomeadamente, $w=mg$, onde w é o peso do objeto, m é a sua massa e g é a aceleração da gravidade. Como a atração devida à gravidade varia com a altitude e latitude, o peso do objeto é variável, porém a sua massa é

constante. Entretanto, usa-se habitualmente o termo “peso” como sinónimo de massa e é neste sentido que é empregado em análise quantitativa. ⁽²²⁾

A balança analítica, uma das mais importantes ferramentas do analista químico, sofreu, com o tempo, mudanças radicais, movidas pelo desejo de produzir um instrumento mais robusto, menos dependente da prática do operador, menos sensível ao ambiente e que, acima de tudo, tornasse mais rápida a operação de pesagem. O instrumento padrão moderno é a balança eletrónica, onde a pesagem é mais conveniente, a possibilidade de falha mecânica é muito menor e a sensibilidade à vibração muito reduzida. Com uma balança eletrónica, o utilizador pode ler imediatamente num leitor digital o peso de um objeto colocado no prato da balança. Além disso, muitas das balanças deste tipo ligam-se a uma impressora, o que permite o registo impresso do peso. Ainda permite o recurso do uso da tara, que permite tarar o peso do recipiente, podendo ler-se diretamente o peso do material adicionado. Muitas balanças incorporam também um sistema de auto-teste, que indica de cada vez que são ligadas se estão a funcionar corretamente, e um sistema interno de calibração de pesos. O controlo da calibração mostra o peso de um padrão incorporado à balança que, por sua vez, indica se alguma correção é necessária. ⁽²²⁾

O objetivo de realizar este ensaio consiste em verificar se a massa das pomadas preparadas permanece constante ao longo do tempo, pois é isto que se pretende, para demonstrar a estabilidade das preparações.

4.2.2. Determinação Potenciométrica do pH

A escala de pH é numérica, definida entre valores de 1 a 14, sendo que os valores inferiores a 7 indicam acidez, iguais a 7 neutralidade e superiores a 7 basicidade. O pH é o número que convencionalmente representa a concentração dos iões hidrogénio numa solução aquosa. Por razões práticas, a sua definição é experimental. O pH de uma solução é expresso relativamente ao de uma solução de referência (pH_s) de acordo com a seguinte equação:

$$pH = pH_s - \frac{E - E_s}{k}$$

onde E representa a tensão, expressa em volts, da célula contendo a solução problema; E_s , a tensão, expressa em volts, da célula contendo a solução de referência de pH conhecido (pH_s); e k a variação da tensão por variação de uma unidade de pH, expressa em volts e calculada pela equação de Nernst. ^(9,23)

A determinação potenciométrica do pH é efetuada medindo a diferença de potencial entre dois elétrodos mergulhados na solução, sendo que um deles é sensível aos iões hidrogénio

(por norma, um eléctrodo de vidro) e o outro eléctrodo é o de referência. O eléctrodo de referência produz um potencial estável e conhecido, o qual permite que a diferença de potencial entre os dois eléctrodos seja função do potencial do eléctrodo seletivo a iões hidrogénio, e que por conseguinte, seja função à concentração de iões hidrogénio na solução amostra. ^(9,23)

São os iões que existem numa solução aquosa, os responsáveis pela condução da corrente eléctrica, sendo que ao imergir o eléctrodo de vidro, contendo uma solução com diferente molaridade, na solução estabelece-se uma diferença de potencial eléctrico entre as duas soluções. O medidor de pH (um voltímetro habitualmente graduado em unidades de pH) é um aparelho que mede esta diferença de potencial e a converte, através de uma calibração interna, num valor de pH. ^(9,24)

Para além dos dois eléctrodos anteriormente referidos, o medidor possui ainda incorporado um termómetro, uma vez que a medição da temperatura é um fator fundamental da medição. ⁽⁹⁾

A determinação do pH não é executada, sistematicamente, em todas as pomadas que contenham água. O seu conhecimento pode, no entanto, constituir um índice extremamente importante, não só para o farmacêutico como para o dermatologista. Cada pomada deve apresentar pH compatível com a região do corpo onde se aplica e, assim, as pomadas para aplicação na pele devem ter um pH entre 6,9 e 7,9. ⁽¹²⁾

A determinação do pH é executada numa fase aquosa obtida pela técnica de Fiedler, que consiste em fundir cinco a dez gramas de pomada em banho-Maria, num copo; seguidamente junta-se trinta mililitros de água destilada, aquecida a 70 °C e agita-se. Deixa-se separar as fases e filtra-se a fase aquosa por papel molhado em água destilada (para que ocorra intumescimento das fibras e conseqüente diminuição do poro), deixa-se arrefecer e mede-se o pH (figura 6). ⁽¹²⁾

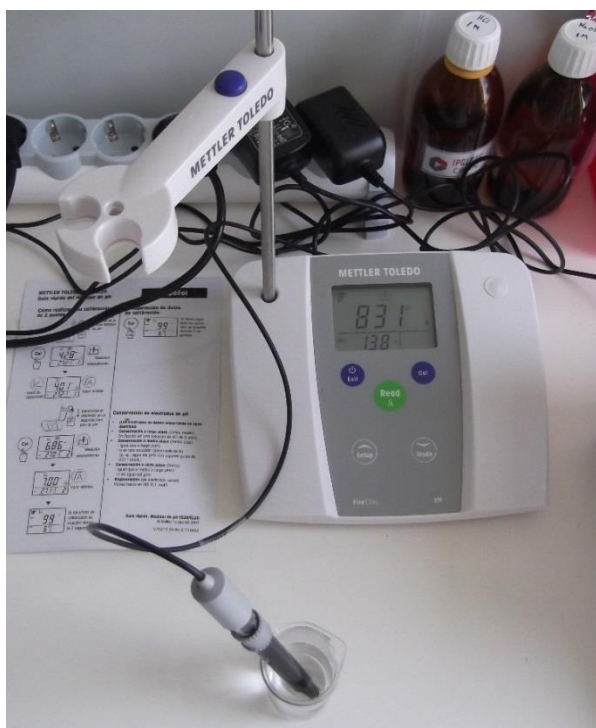


Figura 6 - Determinação Potenciométrica do pH através da técnica de Fiedler.

4.2.3. Determinação da Viscosidade

As substâncias consideradas como corpos semi-sólidos apresentam uma estrutura semelhante à das dispersões coloidais, sendo constituídas por partículas sólidas, dispersas numa fase líquida muito viscosa. Sendo assim, é aceitável que tanto para as dispersões coloidais como para os corpos semi-sólidos, se possa determinar a viscosidade aparente.⁽¹²⁾

A viscosidade aparente determina-se por intermédio de viscosímetros rotativos que constam, essencialmente, de um recipiente onde se introduz a pomada e um elemento que nela mergulha (agulha ou haste), sendo fundamental que o espaço anular, que fica entre ambos, seja suficientemente pequeno, de modo a que a camada de pomada se torne laminar. Na parte inferior das hastes, encontram-se discos de diversos diâmetros, e ainda existem hastes sem disco.⁽¹²⁾

A escolha da haste a utilizar no ensaio depende da maior ou menor viscosidade do sistema em estudo, sendo utilizadas hastes com discos de maior diâmetro para líquidos pouco viscosos e hastes com discos menores, ou sem disco, para sistemas sólidos muito viscosos. No caso das pomadas a estudar, foi usada uma haste sem disco. Tal facto está relacionado com a velocidade de rotação a que se pretende trabalhar, para que sejam possíveis as leituras na escala do aparelho. Todas as hastes têm uma referência que serve para limitar a sua penetração no interior do sistema em estudo. A superfície desta deve coincidir com esse sinal de referência, de modo a permitir que o ensaio decorra nas melhores condições. Além disto, deverá haver o

cuidado de nivelar o aparelho antes do ensaio, mantendo-o sempre na mesma posição durante o decurso do mesmo (figura 7).⁽¹²⁾

Estes aparelhos permitem determinar a viscosidade de um sistema a diferentes velocidades de rotação, as quais em certas categorias de aparelhos, podem variar desde 0,5 rpm até 100 rpm.⁽¹²⁾

A unidade de medida da viscosidade é o Pascal por segundo (Pa/s) podendo também ser usado o Poise (P), sendo mais utilizado o seu submúltiplo centipoise (cP).

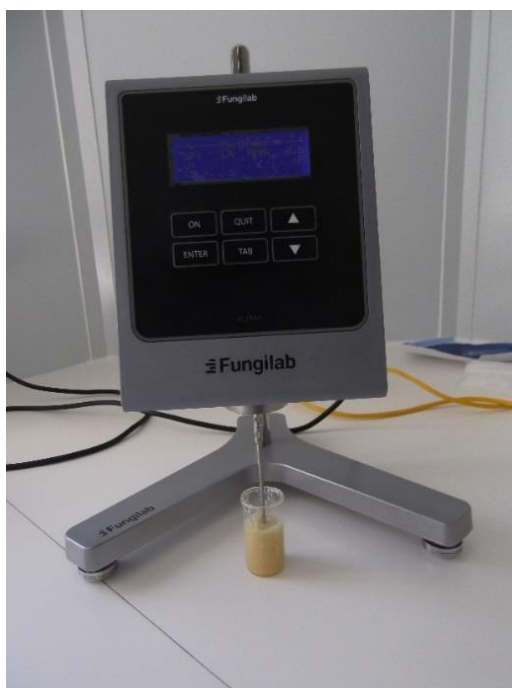


Figura 7 - Determinação da Viscosidade com Viscosímetro.

4.2.4. Determinação da Consistência

O ensaio da consistência (figura 8) foi realizado com recurso ao texturómetro.

As provas de penetração tendem a exprimir a consistência das pomadas em função da penetração nelas exercida por um corpo rígido.⁽¹²⁾

Para realizar este ensaio, coloca-se a pomada em estudo num copo. De seguida este é colocado na base do texturómetro, por baixo da haste que contém o disco que irá penetrar a pomada. Há que ter em atenção a colocação do copo, pois o disco terá de penetrar a pomada no seu centro. O ensaio é então executado. O disco deverá voltar à sua posição inicial.



Figura 8 - Determinação da Consistência com Texturómetro.

4.2.5. Determinação da Espalhabilidade

A espalhabilidade consiste na facilidade com que a pomada se espalha e se estende mediante uma tração. ⁽¹²⁾

As técnicas para determinar a espalhabilidade de uma pomada procuram reproduzir laboratorialmente as condições de esforço que são necessárias para a aplicar na pele. Portanto, trata-se de medir a resistência ao movimento relativo entre dois planos paralelos, um constituído pela superfície cutânea e o outro pela camada da preparação sobre ela aplicada. ⁽¹²⁾

Para realizar o ensaio, coloca-se a pomada na peça fornecida pelo texturómetro e removem-se as bolhas de ar existentes. Coloca-se na base do texturómetro e regula-se a posição, para que o vértice da haste coincida com o centro da referida peça. Executa-se, então, o ensaio (figura 9). A haste deverá voltar à sua posição inicial.



Figura 9 - Determinação da Espalhabilidade com Texturómetro.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO DE RESULTADOS OBTIDOS COM O CONTROLO DE QUALIDADE

5.1. RESULTADOS DO CONTROLO DE QUALIDADE DAS MICROPARTÍCULAS DE *THYMUS MASTICHINA*

Após observação em microscópio, foi possível verificar que as partículas obtidas se tratavam efetivamente de micropartículas. Através da câmara incorporada no microscópio, foi possível fotografá-las (figura 10). A ocular tem um poder de ampliação de dez vezes, e a objetiva utilizada tem um poder de ampliação de quarenta vezes. Assim, a imagem corresponde a uma ampliação de quatrocentas vezes.

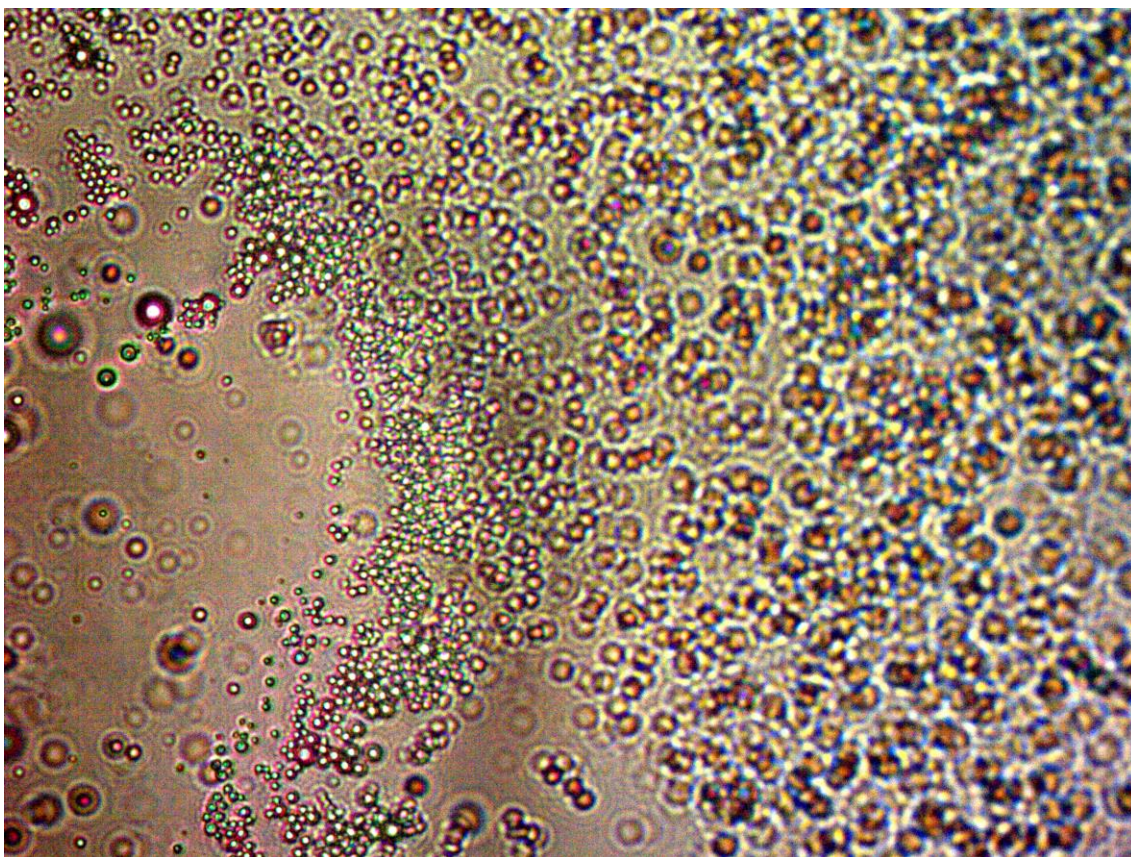


Figura 10 - Micropartículas de *Thymus mastichina* (ampliação 400x).

5.2. RESULTADOS DO CONTROLO DE QUALIDADE DAS FORMAS FARMACÊUTICAS SEMI-SÓLIDAS

5.2.1. Determinação da Massa

Nas tabelas seguintes, indicam-se as massas obtidas das pomadas com óleo essencial e micropartículas incorporadas, nomeadamente das pomadas com óleo essencial incorporado com o excipiente vaselina (tabela 4), pomadas com óleo essencial incorporado com o excipiente lanolina (tabela 5), pomadas com micropartículas incorporadas com o excipiente vaselina (tabela 6) e pomadas com micropartículas incorporadas com o excipiente lanolina (tabela 7).

Tabela 4 - Pomadas com Óleo Essencial incorporado com o excipiente Vaselina.

Pomadas de Óleo Essencial com o excipiente Vaselina		Controlo no dia da preparação (gramas)	Controlo aos três dias (gramas)	Controlo aos cinco dias (gramas)	Controlo aos vinte dias (gramas)
Preparação para o controlo aos três dias	n = 1	19,385	19,381	-	-
	n = 2	19,187	19,086	-	-
	n = 3	19,211	19,215	-	-
	Média e desvio-padrão	19,261 +- 0,138	19,227 +- 0,148		
Preparação para o controlo aos cinco dias	n = 1	19,499	-	19,492	-
	n = 2	19,573	-	19,570	-
	n = 3	19,448	-	19,445	-
	Média e desvio-padrão	19,507+- 0,063		19,502+ - 0,063	
Preparação para o controlo aos vinte dias	n = 1	19,439	-	-	19,449
	n = 2	19,353	-	-	19,370
	n = 3	19,596	-	-	19,629
	Média e desvio-padrão	19,463 +- 0,123			19,483 +- 0,133

Tabela 5 - Pomadas com Óleo Essencial incorporado com o excipiente Lanolina.

Pomadas de Óleo Essencial com o excipiente Lanolina		Controlo no dia da preparação (gramas)	Controlo aos três dias (gramas)	Controlo aos cinco dias (gramas)	Controlo aos vinte dias (gramas)
Preparação para o controlo aos três dias	n = 1	19,185	19,180	-	-
	n = 2	19,118	19,116	-	-
	n = 3	19,430	19,428	-	-
	Média e desvio-padrão	19,244 +- 0,164	19,241 +- 0,165		
Preparação para o controlo aos cinco dias	n = 1	19,449	-	19,447	-
	n = 2	19,448	-	19,485	-
	n = 3	19,340	-	19,338	-
	Média e desvio-padrão	19,412 +- 0,063		19,423 +- 0,076	
Preparação para o controlo aos vinte dias	n = 1	19,465	-	-	19,479
	n = 2	19,198	-	-	19,192
	n = 3	19,232	-	-	19,235
	Média e desvio-padrão	19,298 +- 0,145			19,302 +- 0,155

Tabela 6 - Pomadas com Micropartículas incorporadas com o excipiente Vaselina.

Pomadas de Micropartículas com o excipiente Vaselina		Controlo no dia da preparação (gramas)	Controlo aos três dias (gramas)	Controlo aos cinco dias (gramas)	Controlo aos vinte dias (gramas)
Preparação para o controlo aos três dias	n = 1	19,803	19,995	-	-
	n = 2	19,540	19,539	-	-
	n = 3	19,537	19,600	-	-
	Média e desvio-padrão	19,627 +- 0,153	19,711 +- 0,248		
Preparação para o controlo aos cinco dias	n = 1	19,698	-	19,722	-
	n = 2	19,719	-	19,783	-
	n = 3	19,912	-	19,449	-
	Média e desvio-padrão	19,776 +- 0,118		19,651 +- 0,178	
Preparação para o controlo aos vinte dias	n = 1	19,711	-	-	À data da conclusão do estágio, este controlo ainda não tinha sido efetuado.
	n = 2	19,755	-	-	
	n = 3	19,654	-	-	
	Média e desvio-padrão	19,707 +- 0,051			

Tabela 7 - Pomadas com Micropartículas incorporadas com o excipiente Lanolina.

Pomadas de Micropartículas com o excipiente Lanolina		Controlo no dia da preparação (gramas)	Controlo aos três dias (gramas)	Controlo aos cinco dias (gramas)	Controlo aos vinte dias (gramas)
Preparação para o controlo aos três dias	n = 1	19,408	19,401	-	-
	n = 2	19,451	19,446	-	-
	n = 3	19,481	19,469	-	-
	Média e desvio-padrão	19,447 +- 0,037	19,439 +- 0,035		
Preparação para o controlo aos cinco dias	n = 1	19,666	-	19,663	-
	n = 2	19,742	-	19,743	-
	n = 3	19,519	-	19,520	-
	Média e desvio-padrão	19,642 +- 0,113		19,642 +- 0,113	
Preparação para o controlo aos vinte dias	n = 1	19,236	-	-	À data da conclusão do estágio, este controlo ainda não tinha sido efetuado.
	n = 2	19,783	-	-	
	n = 3	19,625	-	-	
	Média e desvio-padrão	19,548 +- 0,282			

As pomadas foram preparadas com vinte gramas de excipiente. Contudo, logo na pesagem após preparação, verifica-se uma diminuição deste valor. Tal pode dever-se ao facto de existirem perdas de massa nas espátulas e pórfiro, no decorrer da preparação.

Nos pontos de controlo de qualidade, verificam-se alterações relativamente à medição após preparação. Tal pode ocorrer devido a erros de pesagem.

5.2.2. Determinação Potenciométrica do pH

Os valores de pH obtidos neste ensaio são os que se discriminam na tabela 8.

Tabela 8 - Resultados da Determinação Potenciométrica do pH.

Pomadas	Ponto de Estabilidade	pH	Temperatura (°C)
Óleo Essencial incorporado em Vaselina	3 dias	7,76	13,8
	5 dias	7,33	13,8
	20 dias	7,17	13,8
Óleo Essencial incorporado em Lanolina	3 dias	7,16	13,8
	5 dias	7,04	13,8
	20 dias	6,96	13,8
Micropartículas incorporadas em Vaselina	3 dias	7,03	13,8
	5 dias	6,22	13,8
	20 dias	À data da conclusão do estágio, este controlo ainda não tinha sido efetuado.	
Micropartículas incorporadas em Lanolina	3 dias	6,81	13,8
	5 dias	6,63	13,8
	20 dias	À data da conclusão do estágio, este controlo ainda não tinha sido efetuado.	

Analisando os resultados obtidos, verifica-se que:

1. O valor do pH vai diminuindo à medida que decorre o tempo, em todas as pomadas;
2. O valor do pH é mais baixo nas pomadas que contêm micropartículas incorporadas, comparativamente às que contêm óleo essencial incorporado diretamente;
3. Todos os valores de pH se encontram dentro dos valores tolerados para a aplicação na pele.

5.2.3. Determinação da Viscosidade

Os valores de viscosidade obtidos para as pomadas preparadas são os que se discriminam nos gráficos seguintes: controlo de qualidade realizado aos três, cinco e vinte dias (gráfico 1) para a pomada de vaselina com óleo essencial incorporado; controlo de qualidade realizado aos três e cinco dias (gráfico 2) para a pomada de vaselina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas; controlo de qualidade realizado aos três, cinco e vinte dias (gráfico 3) para a pomada de lanolina com óleo essencial incorporado; controlo de qualidade realizado aos três e cinco dias (gráfico 4) para a pomada de lanolina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas.

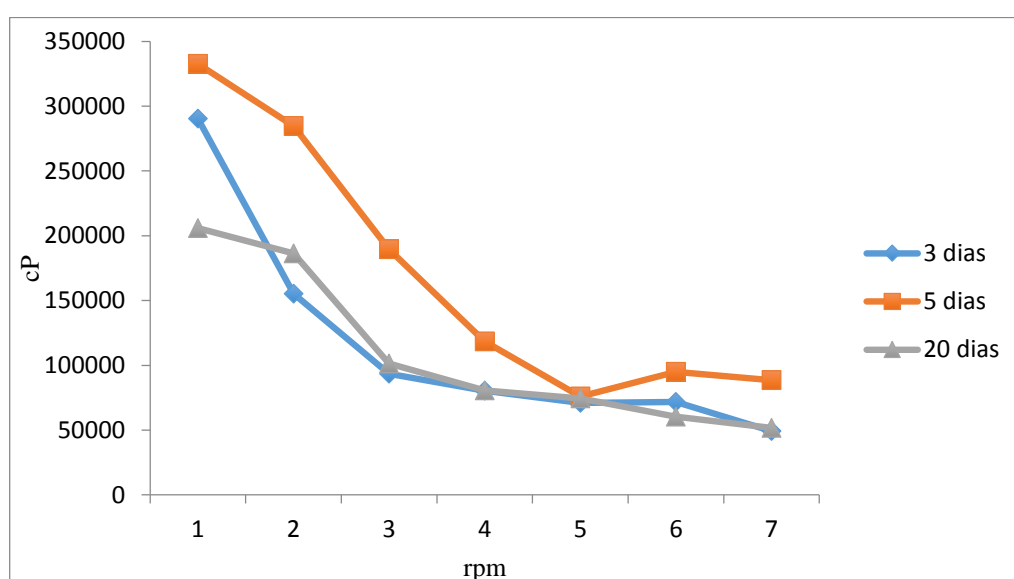


Gráfico 1 - Determinação da viscosidade para as pomadas de vaselina com óleo essencial incorporado.

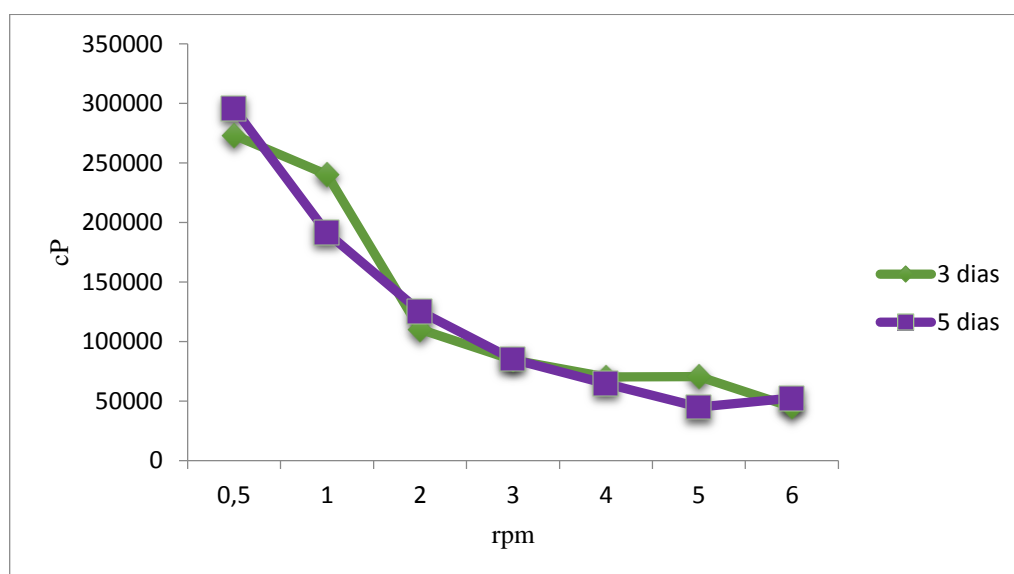


Gráfico 2 - Determinação da viscosidade para as pomadas de vaselina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas.

Após a análise dos gráficos das pomadas realizadas usando a vaselina como excipiente, quer com o óleo essencial diretamente incorporado, quer com a incorporação de micropartículas, pode verificar-se que à medida que aumentam as rotações por minuto, diminui a viscosidade da pomada, algo que era já esperado; os valores são mais ou menos constantes em cada tempo de controlo; e os valores de viscosidade são relativamente semelhantes, comparando as pomadas com óleo essencial apenas e com micropartículas.

A avaliação da viscosidade das pomadas com micropartículas incorporadas, no tempo de controlo aos vinte dias, não foi realizado uma vez que aquando do término do estágio ainda não tinha sido atingido esse tempo.

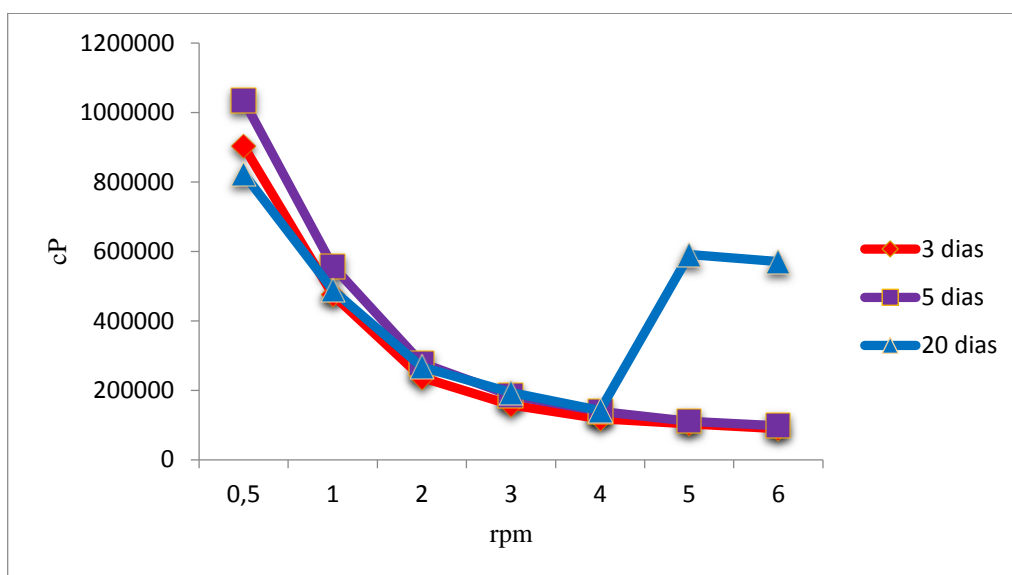


Gráfico 3 - Determinação da viscosidade para as pomadas de lanolina com óleo essencial incorporado.

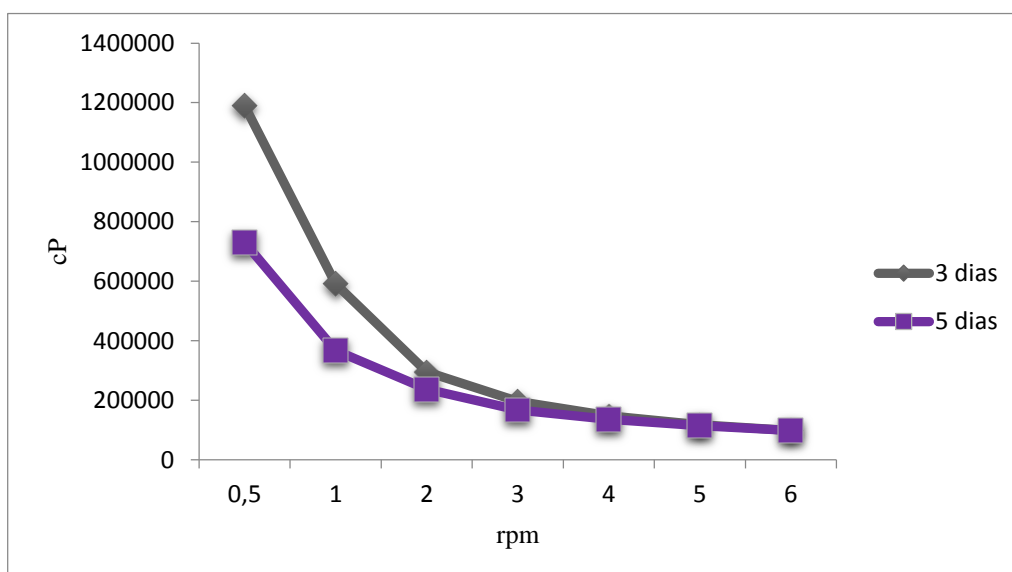


Gráfico 4 - Determinação da viscosidade para as pomadas de lanolina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas.

Após a análise dos gráficos das pomadas realizadas usando a lanolina como excipiente, quer com o óleo essencial diretamente incorporado, quer com a incorporação de micropartículas, pode verificar-se que à medida que aumentam as rotações por minuto, diminui a viscosidade da pomada, algo que era já esperado. Os valores são mais ou menos constantes em cada tempo de controlo, exceto pelos últimos valores medidos (pomada de óleo essencial aos vinte dias e pomada de micropartículas aos cinco dias) devido ao facto de no dia em que foi realizada a medição a temperatura ambiente ter estado muito elevada, tornando as pomadas menos viscosas; e os valores de viscosidade são relativamente semelhantes, comparando as pomadas com óleo essencial apenas e com micropartículas.

A avaliação da viscosidade das pomadas com micropartículas incorporadas, no tempo de controlo aos vinte dias, não foi realizado uma vez que aquando do término do estágio ainda não tinha sido atingido esse tempo.

Através dos valores obtidos de viscosidade, pode ainda verificar-se que as pomadas contendo lanolina apresentam uma viscosidade superior àquelas que apresentam vaselina como excipiente.

5.2.4. Determinação da Consistência

Os resultados obtidos na determinação da consistência são os que se exprimem nos gráficos seguintes: controlo de qualidade realizado aos três, cinco e vinte dias (gráfico 5) para a pomada de vaselina com óleo essencial incorporado; controlo de qualidade realizado aos três e cinco dias (gráfico 6) para a pomada de vaselina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas; controlo de qualidade realizado aos três, cinco e vinte dias (gráfico 7) para a pomada de lanolina com óleo essencial incorporado; controlo de qualidade realizado aos três e cinco dias (gráfico 8) para a pomada de lanolina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas.

O eixo das ordenadas representa o ponto máximo positivo, em gramas por segundo (g/s).

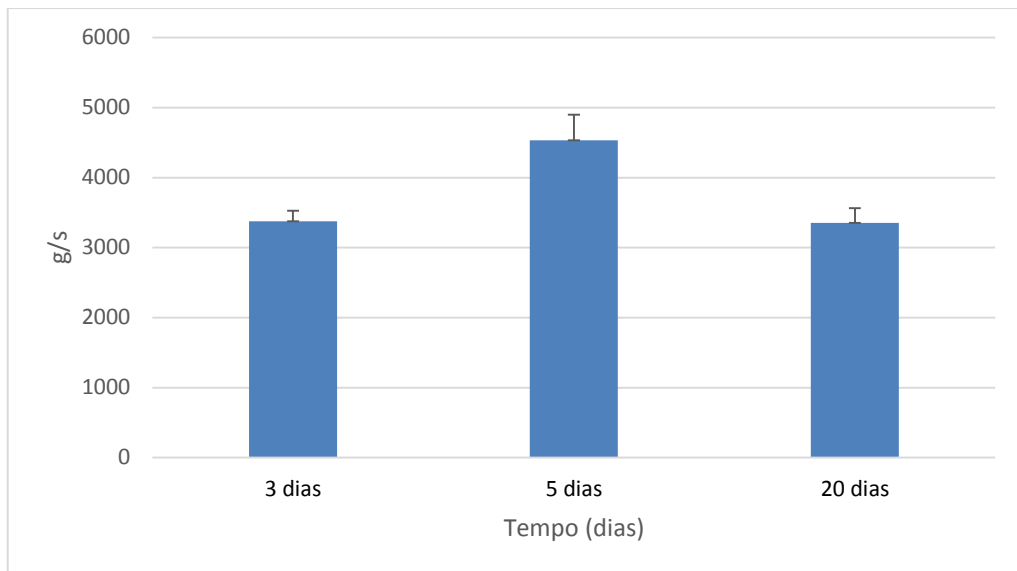


Gráfico 5 - Determinação da consistência para as pomadas de vaselina com óleo essencial incorporado.

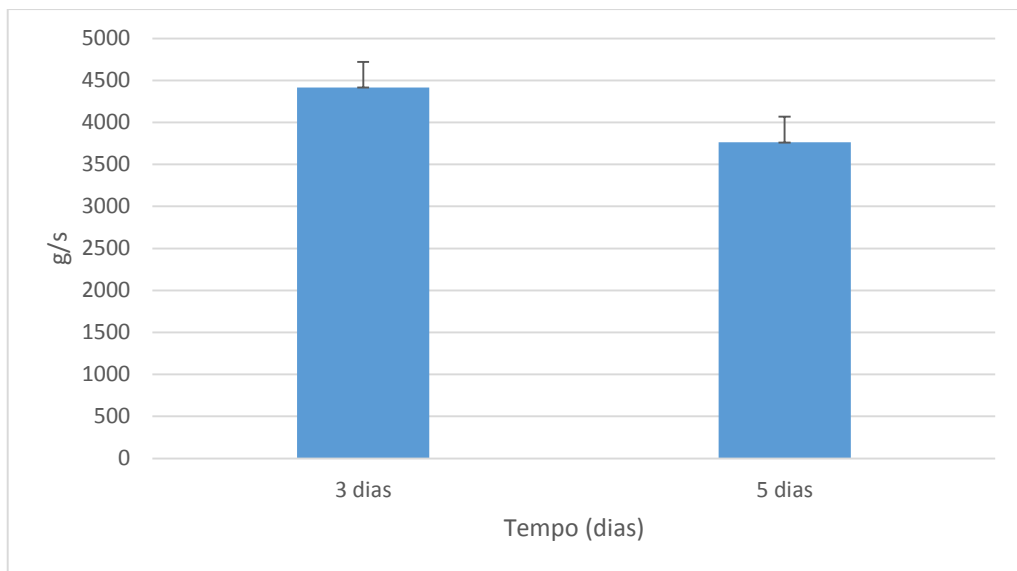


Gráfico 6 - Determinação da consistência para as pomadas de vaselina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas.

Após análise dos gráficos, verifica-se que em todos os tempos de controlo para ambas as pomadas usando vaselina como excipiente, os valores de consistência permanecem mais ou menos constantes, com exceção dos cinco dias das pomadas com óleo essencial incorporado. Existe alguma semelhança entre os valores das pomadas com óleo essencial incorporado e com micropartículas incorporadas.

A avaliação da consistência das pomadas com micropartículas incorporadas, no tempo de controlo aos vinte dias, não foi realizado uma vez que aquando do término do estágio ainda não tinha sido atingido esse tempo.

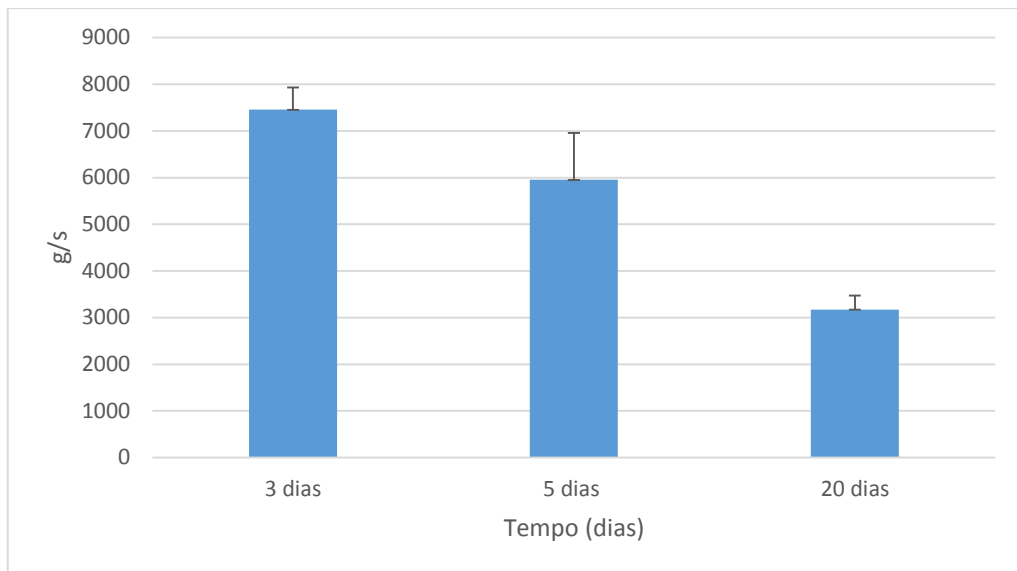


Gráfico 7 - Determinação da consistência para as pomadas de lanolina com óleo essencial incorporado.

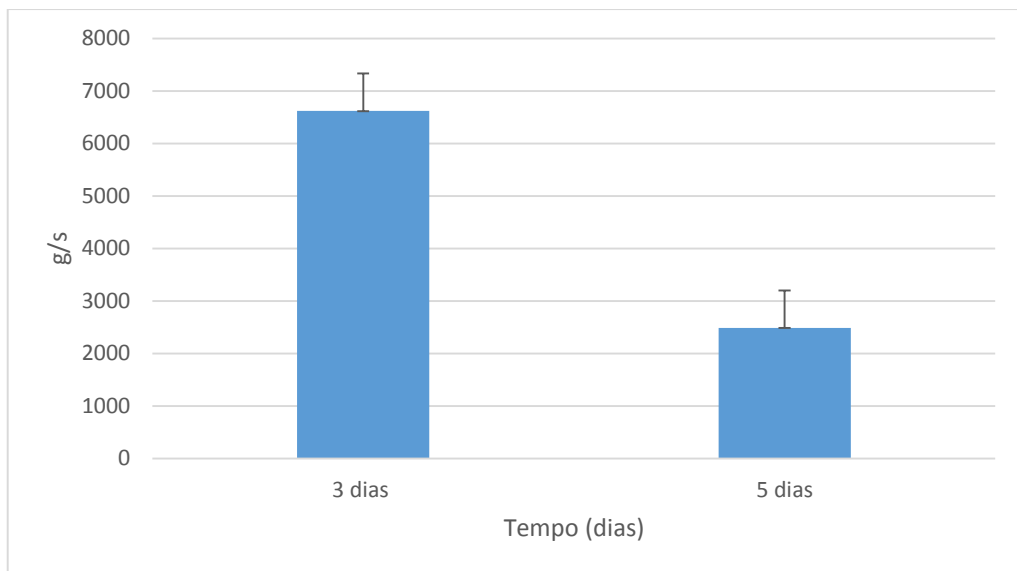


Gráfico 8 - Determinação da consistência para as pomadas de lanolina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas.

Após análise dos gráficos, verifica-se que a consistência diminui ao longo do tempo, para ambas as pomadas usando lanolina como excipiente. Comparando os valores das pomadas com óleo essencial incorporado e com micropartículas incorporadas, percebe-se que as primeiras apresentam uma consistência mais elevada. Nos tempos de controlo dos vinte dias da pomada de lanolina com óleo essencial e dos cinco dias da pomada com micropartículas observa-se um valor bastante mais baixo, pois no dia em que foi realizada a medição a temperatura ambiente estava muito elevada, tornando as pomadas menos viscosas e afetando a consistência.

A avaliação da consistência das pomadas com micropartículas incorporadas, no tempo de controlo aos vinte dias, não foi realizado uma vez que aquando do término do estágio ainda não tinha sido atingido esse tempo.

Pode ainda verificar-se que as pomadas contendo lanolina apresentam uma consistência superior àquelas que apresentam vaselina como excipiente, pela análise dos gráficos.

5.2.5. Determinação da Espalhabilidade

Os resultados obtidos com o ensaio de espalhabilidade são aqueles que se discriminam nos seguintes gráficos: controlo de qualidade realizado aos três, cinco e vinte dias (gráfico 9) para a pomada de vaselina com óleo essencial incorporado; controlo de qualidade realizado aos três e cinco dias (gráfico 10) para a pomada de vaselina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas; controlo de qualidade realizado aos três, cinco e vinte dias (gráfico 11) para a pomada de lanolina com óleo essencial incorporado; controlo de qualidade realizado aos três e cinco dias (gráfico 12) para a pomada de lanolina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas.

O eixo das ordenadas representa a firmeza, em Newton, que é a informação que se obtém acerca da espalhabilidade.

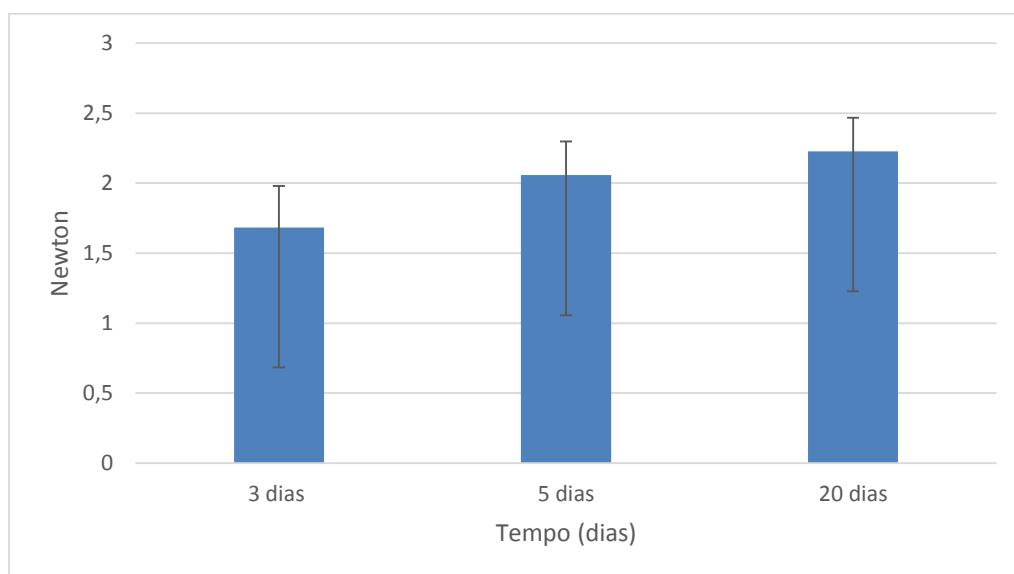


Gráfico 9 - Determinação da espalhabilidade para as pomadas de vaselina com óleo essencial incorporado.

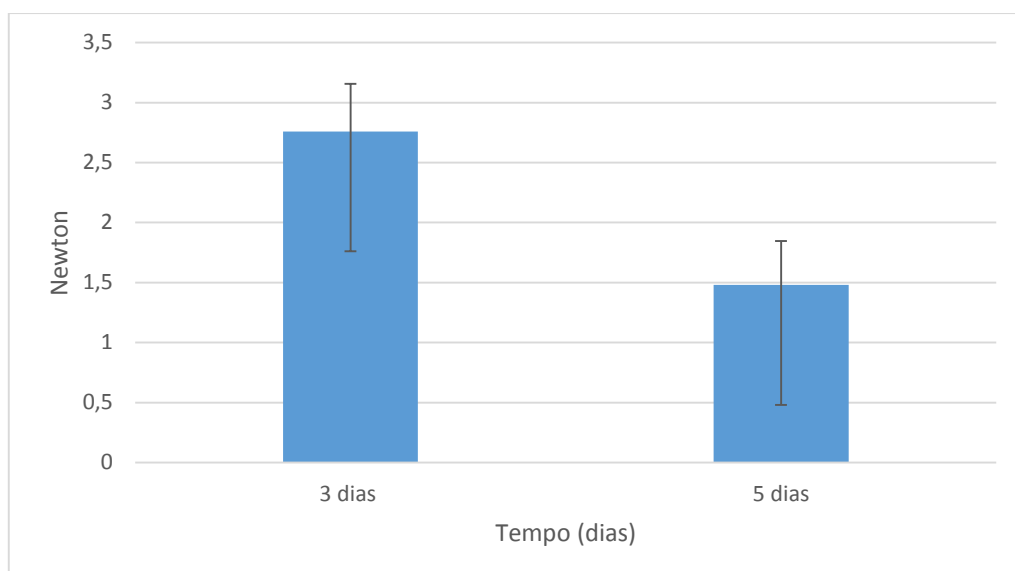


Gráfico 10 - Determinação da espalhabilidade para as pomadas de vaselina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas.

Após análise dos gráficos, verifica-se que em todos os pontos de controlo para ambas as pomadas usando vaselina como excipiente, os valores de espalhabilidade não permanecem constantes. No caso das pomadas com óleo essencial, a espalhabilidade aumenta ao longo do tempo. Nas pomadas com micropartículas incorporadas ocorre o inverso, isto é, a espalhabilidade diminui com o tempo. Os tempos de controlo disponíveis não são suficientes para verificar qual das pomadas apresenta espalhabilidade mais elevada.

A avaliação da espalhabilidade das pomadas com micropartículas incorporadas, no ponto de controlo aos vinte dias, não foi realizado uma vez que aquando do término do estágio ainda não tinha sido atingido esse tempo.

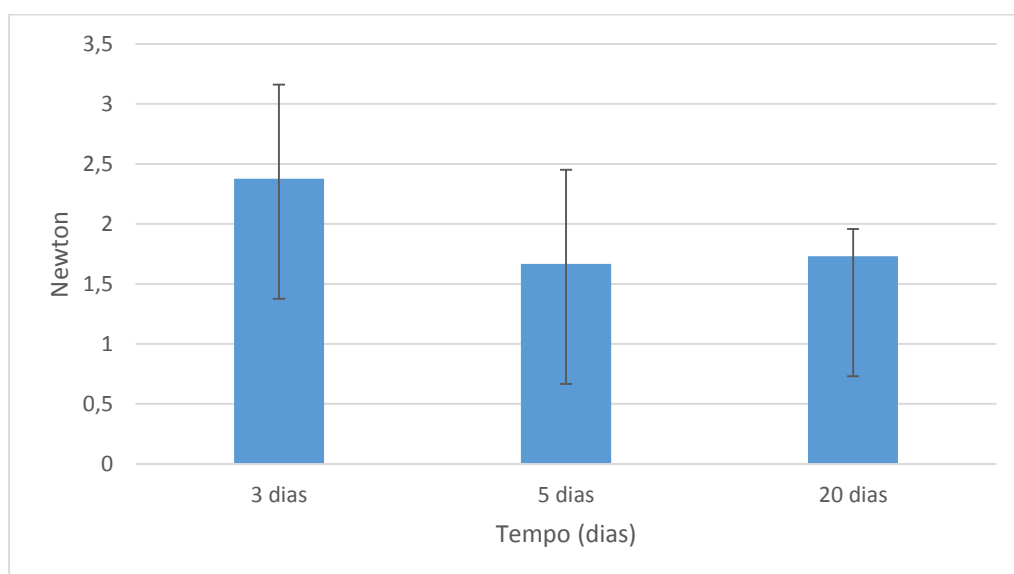


Gráfico 11 - Determinação da espalhabilidade para as pomadas de lanolina com óleo essencial incorporado.

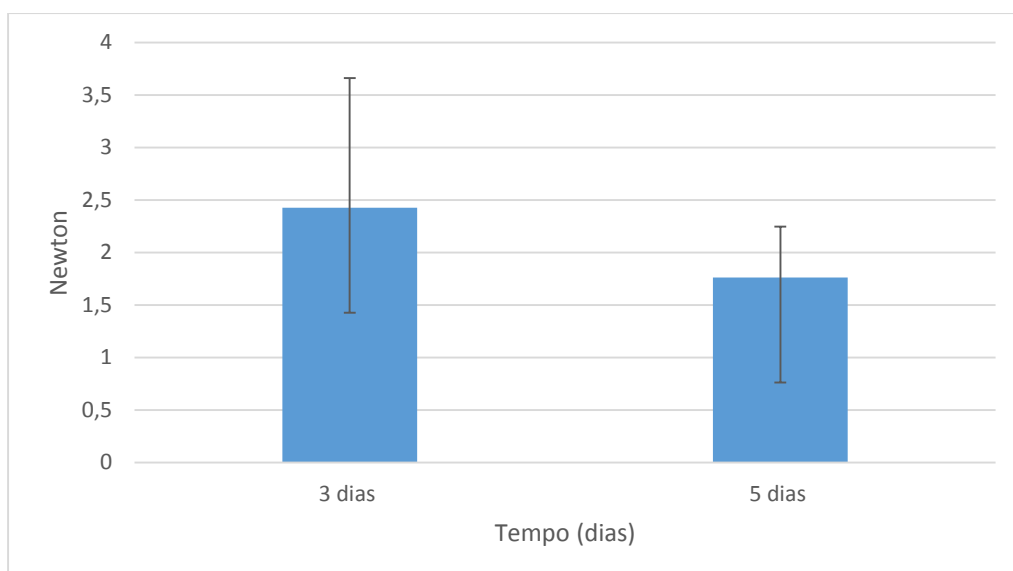


Gráfico 12 - Determinação da espalhabilidade para as pomadas de lanolina com micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas.

Após análise dos gráficos, verifica-se que em todos os tempos de controlo para ambas as pomadas usando lanolina como excipiente, os valores de espalhabilidade não permanecem constantes. Os valores das pomadas com óleo essencial incorporado e com micropartículas incorporadas são semelhantes. Apenas nos tempos de controlo dos vinte dias da pomada com óleo essencial e nos cinco dias com micropartículas incorporadas se observa um valor bastante mais baixo, pois no dia em que foi realizada a medição a temperatura ambiente estava muito elevada, tornando as pomadas menos viscosas e afetando a espalhabilidade.

A avaliação da espalhabilidade das pomadas com micropartículas incorporadas, no ponto de controlo aos vinte dias, não foi realizado uma vez que aquando do término do estágio ainda não tinha sido atingido esse tempo.

CONCLUSÃO

Enquanto estudante, profissional e pessoa, tenho um forte gosto pela área laboratorial. Assim, e atendendo ao facto de ter a oportunidade de estagiar numa área e local à minha escolha, decidi optar por realizar o meu estágio na área de investigação científica, tendo-me sido dada a oportunidade de estagiar nos laboratórios da Escola Superior de Saúde.

Neste estágio foi-me dada bastante autonomia, o que favoreceu a minha aprendizagem e procura rápida de soluções, em caso de aparecimento de algum problema. Pude aprender imenso sobre as plantas seleccionadas, e ainda sobre outras que me iam aparecendo ao longo da pesquisa e que por curiosidade estudei. Também a nível de competências e técnicas laboratoriais os meus conhecimentos foram reforçados. Em suma, deste estágio levo uma enorme bagagem que poderei vir a utilizar mais tarde. Qualquer dúvida que tivesse poderia sempre contar com o apoio dos docentes da Escola, portanto, senti-me acompanhada ao longo deste estágio.

Considero que este projeto se encontra bem estruturado e é muito interessante, apesar de por vezes se ter de alterar os objetivos pré-definidos, tendo os mesmos sofrido modificações ao longo do estágio. Devido a limites de tempo, já não foi possível executar as várias formas farmacêuticas que estavam definidas, nem experimentar realizar micropartículas de alginato, o mesmo tendo sucedido com as nanopartículas e caracterização fitoquímica dos óleos essenciais. O escasso tempo também impossibilitou a obtenção do terceiro ponto de controlo das pomadas contendo micropartículas de *Thymus mastichina* incorporadas. Mesmo assim, julgo que os objetivos conseguiram sempre ser cumpridos.

Os resultados obtidos mostram que as pomadas propriamente ditas preparadas com o excipiente lanolina apresentam uma viscosidade superior às preparadas com vaselina. Os ensaios de consistência mostram que os valores não permanecem constantes ao longo do tempo e que as pomadas preparadas com lanolina apresentam consistência mais elevada. Quanto aos ensaios de espalhabilidade, estes mostraram que tanto os valores de vaselina como de lanolina não permanecem constantes. Não foi possível com os dados recolhidos conhecer qual das pomadas evidencia espalhabilidade mais elevada. Estas variações nos ensaios de controlo de qualidade podem comprometer a estabilidade das pomadas. Assim, será favorável acrescentar mais tempos de estabilidade, para que haja uma verificação mais rigorosa destas características das pomadas preparadas, para assim ser verificada a sua qualidade.

Futuramente, este projeto poderá ser continuado, podendo explorar-se melhor os ensaios de controlo de qualidade das pomadas, bem como aumentar os pontos de estabilidade e variar

as concentrações de óleo essencial e micropartículas adicionados. Seria interessante o desenvolvimento destas formas farmacêuticas com o fim de comercialização.

Acho fantástico estarem a ser dadas oportunidades assim aos alunos que gostam da área laboratorial, e julgo que devem continuar a ser implementadas iniciativas assim, para que os alunos possam aprender mais nesta área, mas também desmistificar em que consiste a investigação científica, já que por vezes não se tem bem a noção em que consiste.

Considero ser um privilégio ter tido a oportunidade de realizar aqui o meu estágio, bem como, enquanto estudante, ter a hipótese de estagiar em investigação científica. Tal permite o entendimento de outras áreas possíveis de atuação, enquanto profissional de saúde e TF, assim como a aquisição de novos conhecimentos e apetências. Portanto, este estágio revestiu-se de uma enorme importância, não só a nível profissional mas também pessoal, não só por todos os motivos atrás mencionados, mas também porque me permitiu realizar um dos meus objetivos e sonhos. Sem dúvida que este estágio acentuou o meu interesse pela área laboratorial, sendo uma área de intervenção que se encontra dentro do leque de áreas possíveis de escolha para o meu trabalho futuro.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Plano de Estágio – Estágio Profissional II, *Regulamento Específico*, fevereiro de 2015, Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico da Guarda.
- (2) Cunha, A. Proença da; Roque, Odete Rodrigues; Nogueira, Maria Teresa; *Plantas Aromáticas e Óleos Essenciais Composição e Aplicações*, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2012.
- (3) Cunha, A. Proença da; Teixeira, Frederico; Silva, Alda Pereira da; Roque, Odete Rodrigues; *Plantas na Terapêutica Farmacologia e Ensaio Clínicos*. (2ª edição), Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2010.
- (4) Cunha, A. Proença da; *Farmacognosia e Fitoquímica*; Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2005.
- (5) Cunha, A. Proença da; Silva, Alda Pereira da; Roque, Odete Rodrigues; *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia* (2ª edição). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2006.
- (6) Costa, Aloísio Fernandes, *Farmacognosia*, I Volume (6ª edição). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.
- (7) Cunha, A. Proença da; Roque, Odete Rodrigues; Gaspar, Natália; *Cultura e Utilização das Plantas Mediciniais e Aromáticas* (2ª edição). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2013.
- (8) Cunha, A. Proença da; Silva, Alda Pereira da; Roque, Odete Rodrigues; Cunha, Eunice; *Plantas e Produtos Vegetais em Cosmética e Dermatologia* (3ª edição). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2011.
- (9) INFARMED, *Farmacopeia Portuguesa VIII*, 2005.
- (10) Vários, *Plantas Aromáticas e Mediciniais do Parque Natural da Serra da Estrela*, Guia Etnobotânico, CISE, Município de Seia.
- (11) Asbahani, A. El; Miladi, M; Bradi, W.; *Essential oils: From extraction to encapsulation*; International Journal of Pharmaceutics; pp 220-243, Elsevier 2015.
- (12) Prista, L. Nogueira; Alves, A. Correia; Morgado, Rui; *Tecnologia Farmacêutica*, III Volume (4ª edição). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.
- (13) Sanna, E., Sharma, R., Juliano, C., Usai, M., Marchetti, M., Karlsen, J., Giunchedi, P., *Solid Lipid Microparticles (SLM) containing Juniper oil as anti-acne topical carriers: preliminary studies*; Pharmaceutical Development and Technology, 2005.
- (14) Danijela Pecarski1, Zorica Knežević-Jugović, Suzana Dimitrijević-Branković, Katarina Mihajilovski, Slobodan Janković, *Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan microparticles with thyme essential oil*, Scientific Paper, pp. 721 – 729, 2014.

- (15) *Lavandula stoechas*, obtido de Flora-on, em www.flora-on.pt, acessido a 02 de junho de 2015.
- (16) Figueiredo, A., Pedro, L., Barroso, J., Trindade, H., Sanches, J., Oliveira, C., Correia, M., *Lavandula luisieri (rozeira) rivas-martinez e Lavandula pedunculata (Mill.) cav.*, Hortofruticultura & Floricultura, Maio 2014.
- (17) Costa, M Margarida RR., Almeida, Maria José BM de, *Fundamentos de Física*, Coimbra: Almedina, 1993.
- (18) Alonso, Marcelo, Finn, J. Edward, *Física*, Madrid: Addison-Wesley Iberoamericana, 1999.
- (19) Costa, Aloísio Fernandes, *Farmacognosia*, III Volume (2ª edição). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982.
- (20) Fishbane, Paul M., Gasiorowicz, Stephen, Thornton, Stephen T., *Physics for Scientists and Engineers* (2ª edição). New Jersey: Prentice-Hall, 1996.
- (21) Giancoli, Douglas C., *Physics* (4.ª edição). New Jersey: Prentice-Hall International, 1995.
- (22) Mendham, J., Denney, RC., Barnes, JD. e Thomas, MJK., Vogel – *Análise Química Quantitativa* (6.ª edição). Rio de Janeiro: LTC Editora, 2002.
- (23) Willard, H., Merritt, L. e Dean, J., *Análise Instrumental* (2.ª edição). Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1979.
- (24) Ventura, S., Trabalho Prático n.º 3 – *Análise Volumétrica*, Manual de Laboratório. Guarda: aulas de Práticas Laboratoriais em Farmácia, 2012.

ANEXOS

ANEXO 1 – PROJETO DE INVESTIGAÇÃO



Escola Superior de Saúde

Instituto Politécnico da Guarda

PROJETO DE INVESTIGAÇÃO

MARTA FILIPA GODINHO MAIA

março | 2015



Escola Superior de Saúde

Instituto Politécnico da Guarda

CURSO DE FARMÁCIA – 1.º CICLO

4.º ANO / 2.º SEMESTRE

PROJETO DE INVESTIGAÇÃO

INCORPORAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM
FORMAS FARMACÊUTICAS SEMI-SÓLIDAS DE
APLICAÇÃO TÓPICA NA PELE

MARTA FILIPA GODINHO MAIA

SUPERVISORA: PROF. SANDRA VENTURA

ORIENTADORA: PROF. PAULA COUTINHO

março | 2015

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Perde-se na história o registo do início da utilização das plantas aromáticas e medicinais pelo Homem. Mas tal terá ocorrido, muito provavelmente, quando o Homem reconheceu que cheirar, mascar e/ou comer determinadas plantas aliviava a dor e a náusea e tratava umas quantas enfermidades. As plantas com essas propriedades, e que produziam aromas agradáveis e intensificavam o sabor e o aroma dos alimentos, passaram a ser reconhecidas e apreciadas pelo Homem primitivo, tendo-se, desde logo, estabelecido a associação entre certos alimentos, determinadas plantas e a sensação de bem-estar. Essas espécies, as atuais plantas aromáticas e medicinais, passaram a ser a principal fonte de fármacos, condimentos e conservantes, sendo o conhecimento adquirido sobre os seus poderes “mágicos” transmitido de geração em geração, mesmo antes da era dos registos escritos. ⁽¹⁾

Em sentido genérico, consideram-se como plantas medicinais todas aquelas cujo uso pelas populações ao longo dos tempos foi reconhecido pelo seu efeito benéfico para a saúde. À medida que os ensaios farmacológicos de comprovação de atividade e de toxicidade e os estudos clínicos vão sendo executados com plantas medicinais, algumas delas perdem o interesse para a utilização clínica, deixando por isso de estar inscritas nas Farmacopeias. No entanto, outras, ao demonstrarem interesse em terapêutica, passam a ser nelas incluídas. Assim, uma planta adquire o estatuto de “medicinal” quando possui constituintes farmacologicamente ativos que conferem a essa planta a possibilidade de ser usada direta ou indiretamente na terapêutica com benefícios para o tratamento ou prevenção de uma dada patologia. ⁽²⁾

Os fármacos vegetais são plantas ou partes de plantas inscritas em Farmacopeias oficiais, incluindo-se neste grupo as plantas medicinais com emprego justificado na terapêutica, cujas monografias nas Farmacopeias, para além da respetiva identificação macroscópica e microscópica, têm ensaios de pureza e ensaios de identificação e de dosagem do ou dos constituintes ativos mais representativos do fármaco. ⁽²⁾

Ao longo da evolução as espécies vegetais desenvolveram vias metabólicas que lhes permitem sintetizar uma grande diversidade de metabolitos secundários. Entre esses metabolitos encontram-se alguns compostos de baixo peso molecular que, por serem voláteis e dotados de aroma, são usualmente designados como compostos aromáticos. As plantas que os sintetizam e armazenam em quantidades apreciáveis são, assim, designadas de plantas aromáticas. Esses produtos de metabolismo secundário podem ser encontrados em todos os órgãos das plantas aromáticas e são produzidos e acumulados em estruturas secretoras especializadas, tanto externas (tricomas secretores e omóforos) como internas (idioblastos, canais e bolsas). Na observação microscópica visualizam-se, nestas estruturas, pequenas

gotículas refringentes que resultam da solubilização dos numerosos compostos voláteis acumulados e que, por destilação e/ou expressão, se concretizam em líquidos de aspeto oleoso, voláteis, e por isso designados, de forma comum, por óleos essenciais. ⁽³⁾

Os óleos essenciais são considerados, por muitos, como os primeiros fármacos a que o Homem teve acesso, utilizados, durante séculos, pelas diversas gerações e que, no seu tempo, foram considerados mais valiosos do que o próprio ouro. ⁽¹⁾

Os óleos essenciais (também designados por essências) são misturas complexas de inúmeros compostos voláteis, responsáveis pelas propriedades odoríferas e por outras características próprias das plantas aromáticas e pelo interesse do Homem por essas plantas. São arrastáveis pelo vapor de água, muito pouco solúveis em água e solúveis nos solventes orgânicos. Os óleos essenciais devem a sua atividade biológica particularmente à natureza química e percentagem dos seus constituintes. Este facto explica e contribui para os diversos tipos de utilização. ^(1,3,4)

O número e a diversidade de constituintes dos óleos essenciais conduzem a uma atividade farmacológica que se manifesta de modos diferentes no organismo humano. Esses óleos e as plantas que os contêm são designados por fármacos aromáticos, quando possuem atividades farmacológicas que justificam a sua inclusão nas Farmacopeias. Na farmácia e na indústria farmacêutica muitos óleos essenciais vão ser usados como medicamentos, tanto para uso interno como para uso externo, ou incluídos como corretores do aroma e do sabor em medicamentos. Assim, produtos medicamentosos contendo óleos essenciais são empregues nos cuidados primários de saúde ou diretamente na aromaterapia. ^(1,3,5)

Os óleos essenciais são obtidos das plantas através de métodos de extração. A tecnologia mais habitual e mais antiga que é usada é a hidrodestilação. Nesta, a extração dos compostos voláteis é realizada por arrastamento pelo vapor de água obtido em gerador apropriado, seguida de passagem do vapor por um condensador, o que origina a sua transformação da fase gasosa em líquido, que em recipiente “tipo florentino”, por ação da gravidade, separa a fase aquosa do óleo essencial. O destilado é assim constituído por óleo essencial e por água aromatizada (hidrolato da planta ou água floral), pois há sempre uma pequena percentagem de compostos do óleo essencial que nela se dissolvem. A vantagem da água é que é imiscível na maioria das moléculas dos óleos essenciais e, após condensação, os óleos essenciais podem ser separados facilmente da água por decantação. No entanto, este método apresenta desvantagens, nomeadamente, o elevado tempo de extração, alterações químicas das moléculas terpénicas por contato prolongado com água a ferver (hidrólise) e sobreaquecimento e perda de algumas moléculas polares na extração aquosa. ^(1,6)

Outro método de extração também usado é a extração por solventes orgânicos, em que a planta é macerada num solvente orgânico e o extrato é concentrado removendo o solvente a baixa pressão. ⁽⁶⁾

As pomadas e os óleos contendo constituintes de plantas possivelmente foram as formas farmacêuticas mais antigas usadas em cosmética. ⁽⁷⁾

Os cremes usados na cosmética fazem parte das preparações semi-sólidas para aplicação cutânea. Podem apresentar-se como uma emulsão de óleo em água (O/A), de consistência pastosa, com gorduras emulsionadas e com constituintes dotados de atividade sobre o tecido cutâneo, para além de agentes emulsivos, humectantes, estabilizantes, outros aditivos e água, caracterizando-se por deixarem a pele não gordurosa. Podem ainda apresentar-se como emulsões de água em óleo (A/O) deixando, neste caso, a pele oleosa, pelo que este tipo de creme será usado particularmente em peles secas. ⁽⁷⁾

Os geles ou géis são preparações transparentes, constituídos por líquidos gelificados por intermédio de agentes gelificantes específicos. Costumam distinguir-se dois tipos, os geles hidrófilos e os geles hidrófobos. Os geles hidrófilos ou hidrogeles são geles cujos excipientes, geralmente, são a água, a glicerina e o propilenoglicol gelificados com gomas, amido, derivados da celulose, polímeros carboxilínicos ou silicatos de magnésio e alumínio. Os geles hidrófobos ou oleogeles são geles cujos excipientes, geralmente, são constituídos por parafina líquida adicionada de compostos polietilénicos, por óleos gordos gelificados, pelo óxido de silício coloidal ou por sabões de alumínio ou zinco. ⁽⁷⁾

As loções eram inicialmente preparações com plantas, obtidas a partir de infusões, cozimentos ou de tinturas diluídas. Atualmente são na sua maioria cremes hidrossolúveis muito diluídos contendo extratos de plantas, sendo utilizadas principalmente para lavar a pele inflamada ou irritada. Pode dizer-se que são preparações líquidas para aplicação cutânea de viscosidade variável, podendo apresentar-se sob a forma de soluções, emulsões ou suspensões, tendo nestas duas apresentações, emulsionantes ou suspensores que permitam, por agitação, tornar a preparação homogénea. ⁽⁷⁾

As pomadas são constituídas por gordura e óleos, normalmente de origem vegetal, estáveis à oxidação (óleo de amêndoas, óleo de jojoba, óleo de “karité”), adicionados de excipientes diversos (ceras, espermacete) para lhes dar consistência própria. Em muitos casos, os óleos e gorduras foram previamente impregnados de constituintes obtidos das plantas ou receberam extratos secos ou extratos glicólicos. Caracterizam-se por não conterem água, sendo em cosmética particularmente úteis quando haja necessidade de proteger a pele da humidade. ⁽⁷⁾

Atualmente, os novos sistemas terapêuticos libertam o fármaco encaminhando-o para um órgão, tecido, célula (ou recetor específico), possibilitando-lhe o exercício da sua atividade

farmacológica com o mínimo de efeitos secundários. Os vetores de fármacos que atinjam um alvo determinado, sem haver dispersão farmacológica por outros locais do organismo, tornam os fármacos menos tóxicos que os convencionais e, nalguns casos, poderá ser necessária uma menor posologia para realizar o mesmo efeito terapêutico. A vectorização medicamentosa é complexa, dado que é necessário ultrapassar numerosas barreiras anátomo-fisiológicas sem que o vetor nelas seja retido, passar por meios hostis química, biológica ou fisicamente, para que se atinja a célula patológica ou mesmo algum dos seus componentes. ⁽⁸⁾

Um dos vetores medicamentosos atuais são as nanopartículas. Estas são substâncias pequenas que reagem e comportam-se como uma unidade total, tendo dimensões entre 1 e 100 nanómetros. Podem ser divididas em substâncias orgânicas ou inorgânicas ou classificadas de acordo com a sua forma, tamanho, superfície e características físico-químicas. Como as partículas interagem com superfícies biológicas, torna-se interessante distinguir entre partículas maleáveis ou rígidas. ^(8,9)

Outro vetor medicamentoso muito utilizado são as micropartículas, isto é, partículas de dimensões micrónicas. Estas podem ser divididas ainda em microcápsulas e microsferas. As microcápsulas têm dimensões de poucas centenas de micrómetros e apresentam uma cavidade central que contém o fármaco, sendo revestidas por um invólucro polimérico. As microsferas são partículas de formato esférico em que o fármaco se encontra dissolvido ou suspenso no seio de uma matriz e cujas dimensões são, em regra, de 10 micrómetros. ⁽⁸⁾

2. ATIVIDADES A DESENVOLVER

O Estágio Profissional II, na área de Investigação Científica, irá decorrer na Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico da Guarda, no período entre os dias 2 de março e 19 de junho de 2015.

O objetivo deste projeto consiste na elaboração e aperfeiçoamento de uma nova forma farmacêutica semi-sólida de aplicação tópica na pele, incorporando óleos essenciais. Como vetor dos referidos óleos, usar-se-ão micro/nanopartículas. O projeto será dividido em duas grandes fases, nomeadamente, a pesquisa bibliográfica e o trabalho laboratorial. Estas fases irão depois dividir-se em várias etapas.

As plantas selecionadas foram o *Juniperus communis* (zimbros) e o *Thymus mastichina* (bela-luz). A primeira etapa da primeira fase do projeto consiste em estudar estas plantas, através da elaboração das respetivas monografias. Para a obtenção de informação acerca destas plantas, bem como da composição dos seus óleos essenciais (a parte da planta que será incorporada nas formas farmacêuticas), recorrer-se-á a manuais, bem como a artigos científicos, usando como palavras-chave “*Juniperus communis*”, “*essential oil of Juniperus communis*”, “*Thymus mastichina*”, “*essential oil of Thymus mastichina*”.

A segunda etapa consiste em recolher informação acerca do método de extração do óleo essencial e ainda sobre nanopartículas e a sua incorporação em formas farmacêuticas semi-sólidas. As referências consultadas para a obtenção desta informação são manuais e artigos científicos, usando como tal as seguintes palavras-chave: “essential oil extraction”, “essential oil extraction from *Juniperus communis*”, “essential oil extraction from *Thymus mastichina*”, “nanoparticles essential oils”, “essential oils in nanoparticles semi solid formulations”, “nanoparticles in skin” e “nanoparticles in dermatology”, “microparticles”, “microparticles essential oils”, “essential oils in microparticles semi solid formulations”, “microparticles in skin” e “microparticles in dermatology”.

De seguida, já a nível laboratorial, serão extraídos os óleos essenciais das plantas selecionadas e introduzidos em nanopartículas ou micropartículas (também preparadas no laboratório). Estas são, de seguida, incorporadas numa forma farmacêutica semi-sólida de aplicação tópica na pele, que poderá ser uma pomada ou creme. Após o desenvolvimento galénico, e obtenção da forma farmacêutica, será realizado a esta o controlo de qualidade.

Resumidamente, as atividades a desenvolver serão as seguintes:

- Caracterização monográfica das plantas selecionadas;
- Extração do óleo essencial das plantas selecionadas;
- Preparação e obtenção de micro/nanopartículas;

- Incorporação do óleo essencial nas micro/nanopartículas;
- Incorporação das micro/nanopartículas numa forma farmacêutica semi-sólida de aplicação tópica na pele;
- Execução do controlo de qualidade à forma farmacêutica preparada.

2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos que se esperam atingir com este projeto são os seguintes:

1. Extração do óleo essencial das plantas *Juniperus communis* e *Thymus mastichina*

1.1 Hidrodestilação com aparelho de Clevenger durante três horas com planta seca

A extração dos óleos essenciais efetua-se por arrastamento pelo vapor de água, num aparelho especial (aparelho de Clevenger) e nas condições que a seguir se precisam. O destilado é recolhido num tubo graduado, na presença de xileno para fixar o óleo essencial, enquanto a fração aquosa volta, automaticamente, ao balão gerador de vapor. ⁽¹⁰⁾

Segundo a Farmacopeia Portuguesa VIII, o aparelho compreende um balão apropriado de fundo redondo, de colo curto esmerilado, tendo um diâmetro interior de cerca de 29 mm na extremidade mais larga; um aparelho de condensação que se adapta perfeitamente ao balão, formado pelas seguintes peças de vidro de baixa dilatação térmica: a rolha oca e a tubuladura de 10 mm de diâmetro interior na parte mais larga do tubo esmerilado, tendo um orifício com cerca de 1 mm de diâmetro, na zona correspondente à parte oca; o tubo graduado dividido em 0,01 ml e com duas marcas acima da graduação; uma dilatação de 3 ml; a dilatação em forma de esfera, com a capacidade aproximada de 2 ml; a torneira de três vias e a junção a um nível superior de 20 mm acima da graduação; um dispositivo de aquecimento apropriado permitindo uma regulação precisa; um suporte vertical com um anel horizontal coberto com um material isolante. ⁽¹⁰⁾

Deve utilizar-se um aparelho perfeitamente limpo e proceder ao doseamento segundo a natureza da planta em ensaio. No balão introduz-se o volume de líquido indicado para o arrastamento pelo vapor e alguns fragmentos de material poroso. Adapta-se ao balão o aparelho de condensação. Deita-se água pelo tubo de enchimento até aflorar na junção.

Tira-se a rolha e introduz-se a quantidade prescrita de xileno com uma pipeta, levando até ao extremo do tubo. Volta-se a colocar a rolha, verificando que os dois orifícios coincidem. Aquece-se o líquido do balão até ao começo da ebulição e destila-se à velocidade de 2 a 3 ml por minuto, salvo indicação em contrário. ⁽¹⁰⁾

1.2 Caracterização fitoquímica dos óleos essenciais

Após extração, os óleos essenciais serão analisados, por forma a verificar as suas características fitoquímicas. Serão realizadas duas técnicas cromatográficas, nomeadamente cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) e cromatografia em camada fina (TLC), para identificação e quantificação de α -pineno (constituente de *Juniperus communis*) e de linalol e eucaliptol (constituintes de *Thymus mastichina*).

Em ambos os óleos essenciais das duas plantas, a fase móvel a utilizar em TLC é acetato de etilo e tolueno, e a fase estacionária é uma placa de gel de sílica. ⁽¹⁰⁾

Entre as técnicas cromatográficas, a cromatografia líquido-sólido em coluna, à pressão atmosférica, é a mais usada para o fracionamento de óleos essenciais. ⁽³⁾ No caso da TLC, não é realizada em coluna mas sim em placa.

1.3 Incorporação do óleo essencial nas formas farmacêuticas

Após extração e análise, o óleo essencial será então incorporado numa forma farmacêutica semi-sólida, a qual será um creme ou pomada. Como excipientes, serão utilizados vaselina, lanolina ou parafina e carbopol como agente emulsivo. ⁽⁸⁾

Como verificação da forma farmacêutica preparada, serão executados os seguintes testes: avaliação do pH, determinação da consistência, determinação do índice de água, determinação da tensão interfacial em cremes e estabilidade e citotoxicidade. ⁽⁸⁾

Como exemplos de formulações a utilizar, podem citar-se: óleo essencial de *Juniperus communis* (10g), salicilato de metilo (15g) e lanolina (75g); efedrina (1g), carbopol 934 (1g), óleo essencial de *Thymus mastichina* (0,1ml), salicilato de metilo (0,01 ml), álcool (2g) e água destilada (96g). ⁽⁸⁾

1.4 Preparação de micropartículas

Segundo os autores Pecarski¹, Knežević-Jugović, Dimitrijević-Branković, Mihajilovski e Janković, as micropartículas de quitosano com óleo essencial encapsulado foram obtidas através do método de emulsificação cross-linking. Foram realizadas duas séries de partículas: uma com concentrações variadas de óleos essenciais (3,6,12 e 15 µl/ml) e outra com várias concentrações do agente cross-linking glutaraldeído (2,3,5 e 8%).⁽¹¹⁾

10 ml de solução de quitosano a 1% em 1,65% de ácido láctico são adicionados a 50ml de solução de parafina líquida com óleo essencial de *Thymus* e 2% de Tween 80, como surfactante resultando numa formulação água/óleo. As fases são misturadas num agitador magnético (10 min a 8000 rpm), para se tornar homogêneo. Após isto, o glutaraldeído, como agente surfactante, é adicionado, sendo as condições de mistura de 30 min a 10000 rpm, e as micropartículas são espontaneamente formadas. As micropartículas resultantes são recolhidas por centrifugação, durante 10 min a 4000 rpm. O sobrenadante foi separado e medido de forma a mais tarde ser usado no cálculo (para determinar quanto óleo essencial não foi incorporado). A fase sólida remanescente contém micropartículas, e estas são sequencialmente lavadas com 175 ml de solução Tween a 1%, depois com 80 ml de etanol e finalmente com 75 ml de água destilada. O etanol tem a função de remover qualquer componente polar que não tenha sido encapsulado. O volume de conteúdo separado é medido. A massa das partículas é medida numa balança analítica. As micropartículas para imagem ao microscópio são armazenadas em tampão acetato, de pH 4,6, em recipiente regular.⁽¹¹⁾

Segundo os autores Hosseini, Mohammadifar, Mortazavian, Mohammadi, Khosravi-Darani, Shojaee-Aliabadi, Dehghan e Khaksar, as micropartículas carregadas por óleo essencial foram preparadas por um procedimento de três passos: preparação de emulsões de gotículas individuais, preparação de emulsões múltiplas óleo/água/óleo e gelificação por reação com cloreto de cálcio. Uma solução de alginato (1% m/v) foi preparada em água desionizada durante a noite sob agitação magnética (200 rpm) à temperatura ambiente. Uma emulsão óleo/água foi preparada com solução de alginato (contendo 1% de Tween 80 (m/v)) para atingir concentrações finais de 1, 2 e 3% (v/v) durante a homogeneização a uma velocidade de 13500 rpm durante cinco minutos. A emulsão múltipla óleo/água/óleo foi preparada para re-emulsionar a emulsão primária (20 ml) com óleo de girassol (30ml) contendo 1% v/v a 10000 rpm durante três minutos. As micropartículas foram geradas adicionando oito gramas de uma solução de cloreto de cálcio (25% m/m), gota a gota (durante cerca de quatro minutos) à emulsão múltipla óleo/água/óleo (50 ml) sob agitação magnética. A mistura foi então agitada durante mais vinte minutos. As micropartículas foram recuperadas por centrifugação a 2500

rpm durante cinco minutos, seguido por filtração a vácuo através de uma bomba de vácuo e várias lavagens com água desionizada contendo 0,1% v/v de Tween 80. Finalmente, as micropartículas foram congeladas a -80 °C durante duas horas e liofilizadas com um liofilizador durante catorze horas. ⁽¹²⁾

2.2. CALENDARIZAÇÃO DAS ATIVIDADES A DESENVOLVER

Quinzena	Março	Abril	Maio	Junho
Primeira	Pesquisa Bibliográfica	Desenvolvimento Galénico		
Segunda			Controlo de Qualidade	

BIBLIOGRAFIA

- (1) Cunha, A. Proença da; Roque, Odete Rodrigues; Nogueira, Maria Teresa; *Plantas Aromáticas e Óleos Essenciais Composição e Aplicações*, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2012.
- (2) Cunha, A. Proença da; Teixeira, Frederico; Silva, Alda Pereira da; Roque, Odete Rodrigues; *Plantas na Terapêutica Farmacologia e Ensaio Clínicos*, 2ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2010.
- (3) Cunha, A. Proença da; *Farmacognosia e Fitoquímica*; Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2005.
- (4) Cunha, A. Proença da; Silva, Alda Pereira da; Roque, Odete Rodrigues; *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia*, 2ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2006.
- (5) Costa, Aloísio Fernandes, *Farmacognosia*, I Volume, 6ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.
- (6) Asbahani, A. El; Miladi, M; Bradi, W.; *Essential oils: From extraction to encapsulation*; International Journal of Pharmaceutics; pp 220-243, Elsevier 2015.
- (7) Cunha, A. Proença da; Silva, Alda Pereira da; Roque, Odete Rodrigues; Cunha, Eunice; *Plantas e Produtos Vegetais em Cosmética e Dermatologia*, 3ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2011.
- (8) Prista, L. Nogueira; Alves, A. Correia; Morgado, Rui; *Tecnologia Farmacêutica*, III Volume, 4ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996.
- (9) António, João Roberto; António, Carlos Roberto; Cardeal, Izabela Lídia Soares; *Nanotechnology in Dermatology*; An Bras Dermatol, pp 126-136, janeiro-fevereiro 2014.
- (10) INFARMED, *Farmacopeia Portuguesa VIII*, 2005.
- (11) Danijela Pecarski1, Zorica Knežević-Jugović, Suzana Dimitrijević-Branković, Katarina Mihajilovski, Slobodan Janković, *Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan microparticles with thyme essential oil*, Scientific Paper, pp. 721 – 729, 2014.
- (12) Seyede Marzieh Hosseini, Hedayat Hosseini, Mohammad Amin Mohammadifar, Amir Mohammad Mortazavian, Abdorreza Mohammadi, Kianoosh Khosravi-Darani, Saeedeh Shojaee-Aliabadi, Solmaz Dehghan, Ramin Khaksar, *Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ionic gelation process*, International Journal of Biological Macromolecules, pp 582-588, 2013.

ANEXOS

1. Zimbro (*Juniperus communis*)

Método de extração	Compostos analisados	Método de análise	Técnica analítica	Ano	Referência bibliográfica
Hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger por duas horas.	Monoterpeno α -pineno	Cromatografia gasosa (GC)	Os enantiómeros de α -pineno foram separados em coluna HP-Chiral-20B com hélio como gás transportador. 10 μ L de óleo essencial foram diluídos em 1 mL de mistura de álcool dietílico e n-pentano (1:1) e analisado em cromatógrafo gasoso FOCUS (Thermo Scientific) com detetor de ionização de chama (FID).	2013	Juozas Labokas & Kristina Loziene, <i>Variation of essential oil yield and relative amounts of enantiomers of α-pinene in leaves and unripe cones of <i>Juniperus communis</i> L. growing wild in Lithuania</i> , Journal of Essential Oil Research, 244-250.
<ul style="list-style-type: none"> Hidrodestilação (HD) Os óleos foram isolados a partir de agulhas ou bagas frescas, por hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger por 2,5 horas. Para cada extração foram usados 200g de material da planta e 2L de água. As frações de óleo essencial foram recolhidas, secas sobre sulfato de	Monoterpenos	GC	A análise de amostras SPME e óleos essenciais foi realizada usando um cromatógrafo gasoso (Agilent Technologies a GC 6890A) acoplado a um detetor de massa seletivo (MSD 5973	2012	Yazid Foudil-Cherif, Nouredine Yassaa, <i>Enantiomeric and non-enantiomeric monoterpenes of <i>Juniperus communis</i> L. and <i>Juniperus oxycedrus</i> needles and berries determined by HS-SPME and enantioselective GC/MS</i> , Food Chemistry.

<p>sódio anidro e armazenadas a 4°C até serem realizadas as análises.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Microextração em fase sólida (SPME) <p>Foram usadas três camadas 50/30µm de fibra de divinilbenzeno-carboxenpolidimetilsiloxano (DVB-CAR-PDMS) de Supelco (Taufkirchen, Alemanha), selecionadas com base na sua alta performance em relação aos monoterpenos. Cada nova fibra foi condicionada termicamente antes do uso, de acordo com as recomendações do fabricante. A microextração foi feita à temperatura ambiente pesando 200 mg de agulhas isoladas ou bagas trituradas manualmente num frasco de 20ml equipado com um Teflon / septo de silicone (Supelco). A agulha de SPME foi inserida no suporte e (DVB-CAR-PDMS) foi exposta por 5 minutos. Cada extração foi repetida 3 vezes. Para alcançar o equilíbrio entre a amostra e o equipamento, as amostras foram mantidas no interior do vial antes de se iniciar a extração.</p>			<p><i>inert</i>) da mesma companhia. Os monoterpenos enantioméricos e não enantioméricos foram separados usando uma coluna capilar Cyclodex-B</p>		
<p>O óleo essencial foi isolado por hidrodestilação por 3 horas a partir das agulhas, usando um aparelho do tipo Clevenger.</p>	<p>Monoterpenos</p>	<p>GC</p>	<p>A cromatografia gasosa foi realizada num cromatógrafo Hewlett-Packard 6890 com sistema de</p>	<p>2012</p>	<p>C. Cabral, V. Francisco, C. Cavaleiro, M.J. Gonçalves, M.T. Cruz, F. Sales, M.T. Batista & L. Salgueiro; <i>Essential Oil of Juniperus</i></p>

			tratamento de dados HP GC ChemStation Rev. A.05.04, equipado com um único injetor e dois detetores de ionização de chama (FID).		<i>communis subsp. Alpina (Suter) Celak Needles: Chemical Composition, Antifungal Activity and Cytotoxicity; Phytotherapy Research, 1352-1357.</i>
Extração com metanol	Flavonóides e bioflavonóides	HPLC-DAD- ESI-MS	-	2009	Natalizia Miceli et al, <i>Comparative Analysis of Flavonoid Profile, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Berries of Juniperus communis L. var. communis and Juniperus communis L. var. saxatilis Pall. from Turkey, J. Agric. Food Chem 6570-6577</i>
-	Fenóis	HPLC/DAD e HPLC/ESI/MS	-	2007	Marzia Innocenti, <i>Flavonoids and Bioflavonoids in Tuscan Berries of Juniperus communis L.: Detection and Quantitation by HPLC/DAD/ESI/MS, J. Agric. Food Chem, 6596- 6602.</i>
Extração com fluido supercrítico	Análise do óleo essencial	GC, usando ionização de chama (GC-FID) e deteção por espectroscopia de massa (GC- MS)	-	2005	Branislava Barjaktarovic, Milan Sovilj & Zeljko Knez, <i>Chemical Composition of Juniperus communis L. Fruits Supercritical CO₂ Extracts: Dependence on Pressure and Extraction Time, J. Agric. Food Chem., 2630-2636.</i>

2. Bela-luz (*Thymus mastichina*)

Método de extracção	Compostos analisados	Método de análise	Técnica analítica	Ano	Referência bibliográfica
Os extratos foram preparados a partir de 100 mg de flores secas e folhas. Após extração em 16 mL de metanol a 50% por uma hora, as amostras foram filtradas usando pipetas de Pasteur cobertas com algodão na ponta e armazenadas numa sala a 4 °C até ser efetuada a análise.	Fenóis	HPLC-DAD	A coluna utilizada é de fase reversa. Fases móveis utilizadas foram: ácido acético/acetoneitrilo 1% (85:15 v/v) como solvente A e metanol como solvente B.	2015	I.Méndez-Tovar, S. Sponza, M.C. Asencio-S-Manzanera, J. Novak, <i>Contribution of the main polyphenols of Thymus mastichina subsp. Mastichina to its antioxidante properties</i> , Industrial Crops and Products.
Os óleos essenciais foram separados do material seco, usando 180 g deste em 2 L de água por hidrodestilação durante 150 min usando um aparelho do tipo Clevenger.	Fenóis	GC	As análises foram realizadas num cromatógrafo gasoso equipado com um detetor de ionização de chama (FID).	2014	Teresa Delgado, Pilar Marineiro, M. Carmen Asencio-S.-Manzanera, Carmen Asencio, Baudilio Herrero, José Alberto Pereira, Elsa Ramalhosa, <i>Antioxidant activity of twenty wild Spanish Thymus mastichina L. populations and its relation with their chemical composition</i> , LWT-Food Science and Technology.
Os óleos essenciais foram isolados da planta seca (100g) por hidrodestilação durante 3 horas usando um aparelho do tipo Clevenger. Os óleos essenciais foram armazenados a -20°C no escuro antes da análise.	Fenóis	GC	As análises cromatográficas gasosas foram realizadas utilizando um Perkin Elmer Autosystem XL equipado com dois detetores de ionização de chama (FID), um sistema de tratamento de dados e uma porta de injetor em que foram instaladas duas colunas de polaridades diferentes.	2009	J. Bentes, M.G. Miguel, I. Monteiro, M. Costa, A.C. Figueired, J. G. Barroso & L.G. Pedro, <i>Antioxidant Activities of the Essential Oils and Extracts of Portuguese Thymbra Capitata and Thymus Mastichina</i> , J. Food Sci., n.º 2, vol 21.

ANEXO 2 – MONOGRAFIA *JUNIPERUS COMMUNIS*

Zimbro

Espécie

Juniperus communis L.

Família

Cupressaceae.

Nomes vulgares em Portugal

Junípero, zimbreiro, zimbro-comum.

Descrição Botânica

O zimbro é uma pequena árvore ou arbusto de um a três metros. A sua frutificação é um gábulos baciforme, de maturação bienal ou trienal, verde no primeiro ano, depois pruinoso e negro na maturação. Apresenta sementes livres, geralmente três por gábulos.

O zimbro é uma espécie dióica. A intumescência forma-se da seguinte forma: um eixo floral em volta do qual se agrupam verticilos trímeros de pequenas brácteas escamiformes e estéreis. Só são férteis as do verticilo superior, e na axila de cada uma aparece, em geral, uma escama carpelar, aderente, com um só óvulo ortotrópico. Na maturação estas três folhas carpelares, acrescentes, tornam-se carnudas, aproximam-se umas das outras e quase se soldam por completo, só se ajustam nas extremidades. Forma-se assim uma gábulos globosa com um eixo, correspondente aos verticilos estéreis, transformado num pedúnculo. O conjunto simula um fruto, conhecido impropriamente pelo nome de baga de zimbro.

A maturação demora dois ou três anos. No fim do Estio do ano anterior ao da maturação completa a sua cor é esverdeada, só no último ano se torna negro-azulada escurecida, por se terem oxidado as substâncias tânicas, devido à atividade de fermentos.

As gábulos (ou gábulos) são baciformes, ovoide-globosas, enrugadas, anegradas, pequenas como ervilhas, de cinco a nove milímetros de diâmetro, pruinosas, mas pelo atrito, depois de secas, desaparece o revestimento ceroso e tornam-se lustrosas. Num dos pólos pode notar-se um pedúnculo curto (por vezes ausente), com algumas brácteas escamiformes estéreis, as do último verticilo aderidas à base das folhas carpelares férteis e reconhecidas pelo seu contorno arredondado. No pólo superior das gábulos, as três folhas carpelares férteis justapõem-se, acabam em pontas salientes e determinam o aparecimento de três fendas radiais.

As folhas carpelares são internamente carnudas, granulosas e de cor mais clara.

No centro de cada gálbula encontram-se três sementes (por vezes menos), trigonais, aquilhadas, compridas, dispostas no sentido do eixo, duras, soldadas na base às folhas carpelares, livres no cimo, com grandes reservatórios exteriores de óleo-resinas.

Apresenta um cheiro resinoso e aromático e um sabor resinoso, doce e depois amargo.

Aparece por vezes falsificado pelas gálbulas de outras espécies do mesmo Género, morfológicamente idênticas, mas distintas, particularmente pela cor, mas ainda pelas dimensões, brilho e número de sementes. Devem rejeitar-se as coradas de vermelho, dado serem provenientes de espécies mais frequentes em certas regiões (*J. Oxycedrus* L., *J. phoenicea* L., entre outras).

Em cortes histológicos transversais das folhas carpelares observa-se exteriormente uma epiderme de células de paredes grossas e de conteúdo corado. Na zona de contacto de duas folhas carpelares, as células epidérmicas tornam-se salientes e unem-se entre si como os dentes de duas rodas. Segue-se uma camada delgada colenquimatosa formada por duas a três fiadas de células de conteúdo corado. Depois, observa-se um parênquima desenvolvido de células grandes delgadas, lacunoso, de cor verde-amarelada; feixes líbero-lenhosos com fibras areoladas; numerosos canais resiníferos esquizogéneos, grandes, regularmente dispostos, cheios de óleo-resina amarelo-esverdeada.

A epiderme interna é formada por células mais pequenas, de paredes grossas, muitas delas contendo cristais de oxalato de cálcio.

O exame microscópico das sementes (nas zonas em que se encontram livres) mostra epiderme formada por duas fiadas de células de paredes delgadas; segue-se uma zona esclerosa que envolve por completo a amêndoa, constituída por várias fiadas de células de paredes lenhificadas, grossas, canaliculadas, de lúmen reduzido mas contendo, mesmo assim, um ou dois cristais prismáticos de oxalato de cálcio. Internamente limita-a uma camada contínua de células muito compridas, achatadas e coradas e, finalmente, uma fiada de células de paredes delgadas representando a epiderme interna do tegumento.

A amêndoa compõe-se de um endosperma de células parenquimatosas contendo óleo e aleurona (só nas gálbulas não maduras existe amido), que envolve um embrião com dois cotilédones.

Na região média da gálbula, onde o tecido parenquimatoso da escama carpelar se confunde pouco a pouco com o tecido escleroso do tegumento, encontram-se grandes reservatórios externos óleo-resinosos, tão desenvolvidos que deslocaram o tecido parenquimatoso e originaram depressões no tecido escleroso do tegumento.

Distribuição Geográfica

O zimbro cresce na Europa, Ásia Ocidental e Setentrional e no Continente norte-americano, principalmente em zonas montanhosas. Encontra-se espontâneo, esporadicamente, em Trás-os-Montes e Minho. Pode ser ainda cultivado. Adapta-se a diversos tipos de solos e de condições climáticas, tolerando solos ácidos e alcalinos e pouco férteis, mas preferindo terrenos soltos e bem drenados.



Figura 1 – Distribuição geográfica do Zimbro em Portugal

Cultura

Esta planta pode propagar-se por sementeira no Outono ou no Inverno, podendo demorar um ou dois anos para germinar. A propagação também pode ser feita por estaca ou mergulhia. As estacas são colocadas a enraizar em estufa em ambiente quente e húmido. Apenas no terceiro ano é aconselhável colocar as plantas no local definitivo, sob abrigo que poderá ser retirado quando a planta estiver no quinto ano. As plantas transplantadas deverão ser regadas quando se instalam no local definitivo.

O zimbro é uma planta muito rústica, adapta-se a diversas condições edafo-climáticas e possui grande longevidade.

Dá-se melhor em locais abertos ao sol, é tolerante à seca, mas deve ser regado antes que o solo fique completamente seco.

Colheita e Processamento

As gábulas devem ser colhidas quando maduras, de outubro a novembro. Deve-se deixar secar ao ar, de preferência abrigado da luz, ou com secador com ventilação forçada a temperatura não superior a 30 °C.

Partes da planta utilizadas

Gábulas maduras, cascas do tronco, de ramos e de raízes e óleo essencial.

Constituintes

As gábulas são constituídas por óleo essencial, 1 a 3%, com monoterpenos em cerca de 55% (α -pineno, β -pineno, canfeno, sabineno, limoneno, terpineol, borneol, geraniol), sesquiterpenos (β -elemento, cariofileno, cadinenos), fenóis, ésteres; constituinte amargo (juniperina); resina; lípidos (cerca de 10%); glicéridos de ácidos gordos diversos; diterpenos; oses (glucose e frutose); taninos hidrolisáveis; flavonóides. Segundo a Farmacopeia Portuguesa VIII, deve conter no mínimo 10ml/kg de óleo essencial, calculado em relação ao fármaco seco.

As cascas contêm diterpenos; sesquiterpenos; taninos hidrolisáveis (3 a 5%); procianidinas oligoméricas; linhanos (6 a 10%); fitosteróis (estigmasterol); leucoantocianinas.

Farmacologia e Atividade Biológica

As principais propriedades medicinais do zimbro relacionam-se com a sua essência.

Usando o óleo essencial das gábulas, o zimbro tem um efeito diurético, antisséptico, digestivo e expetorante. O constituinte amargo torna-as um digestivo. Externamente, o óleo é rubefaciente e antimicótico.

As cascas podem ser usadas como antioxidante e venoprotector.

Usos Etnomédicos e Médicos

As gábulas são usadas em casos de falta de apetite, em afeções geniturinárias e bronquite. Externamente, usam-se em inflamações reumáticas.

As cascas são popularmente usadas como depurativo, diurético e diaforético, no tratamento do reumatismo e afeções dermatológicas. Externamente, usa-se em inflamações orofaríngeas e, em banhos, nas dores reumáticas.

Atividade Biológica sobre o Tecido Cutâneo

O óleo essencial das gábulas é rubefaciente e antimicótico. As gábulas pelos taninos têm ação adstringente.

Principais Indicações

Infeções e litíase do aparelho excretor urinário, pela ação diurética, e ainda na anorexia.

Principais Aplicações Cosméticas e Dermatológicas

As loções com 1% de tintura obtida de gábulas são usadas em peles oleosas e com acne.

O óleo essencial é aplicado em formulações dermatológicas, nas dermatomicoses.

Usos aprovados pela Comissão Europeia

As gábulas estão aprovadas em casos de dispepsia e perda de apetite.

Contra-indicações

O óleo essencial não deve ser usado durante a gravidez (pode ter um efeito oxitócico), na aleitação, em crianças, em doentes com problemas neurológicos, insuficiência cardíaca ou em nefropatia.

Efeitos Secundários e Toxicidade

Em uso prolongado ou sobredosagem, principalmente, o óleo essencial é nefrotóxico, podendo aparecer albuminúria e hematúria. O uso prolongado de loções, particularmente em peles sensíveis, é irritante.

Precauções

Não prolongar o uso de preparações de gábulas para além de seis semanas.

Formas de Administração e Posologia

Em caso de uso interno, a dose média diária é de 2 gramas. No máximo, 10 gramas, o que corresponde a cerca de 1 % de óleo essencial.

- Infusão: 1 a 2 gramas por chávena, 2 a 3 chávenas por dia.
- Tintura (1:10): 35 a 50 gotas, 1 a 2 vezes por dia.
- Óleo essencial: 1 ou 2 gotas, 1 a 2 vezes por dia, sobre um torrão de açúcar, em diluição oleosa ou alcoólica, ou em cápsulas a 50 miligramas, 1 a 2 por dia.
- Extracto seco (5:1): 50 a 100 miligramas, 1 a 2 vezes por dia.
- Solução alcoólica de gábulas a 1:5: 20 gotas, 2 ou 3 vezes por dia.

Em caso de uso externo:

- Cozimento: 20 a 30 g/L.
- Solução alcoólica de zimbro, 5 a 10% em fricções.

Curiosidades e Usos Tradicionais

O zimbro é um arbusto de folha persistente, utilizado como planta ornamental. Na Idade Média, era queimado para afastar a peste e também porque se considerava detentor de poderes protetores contra espíritos malignos. As bagas de zimbro são utilizadas na confecção de molhos e pratos de carne, facilitando a sua digestão e, ainda, aromatização de licores. Popularmente, é referenciado para evitar diarreias e flatulência, dado que o seu óleo é desinfetante e elimina bactérias intestinais indesejáveis; é também indicado para o ácido úrico e dores generalizadas.

Imagens de Zimbro



Referências Bibliográficas

Costa, Aloísio Fernandes, *Farmacognosia*, I Volume, 6ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.

Cunha, A. Proença da; Roque, Odete Rodrigues; Gaspar, Natália; *Cultura e Utilização das Plantas Medicinais e Aromáticas*, 2ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2013.

Cunha, A. Proença da; Roque, Odete Rodrigues; Nogueira, Maria Teresa; *Plantas Aromáticas e Óleos Essenciais Composição e Aplicações*, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2012.

Cunha, A. Proença da; Silva, Alda Pereira da; Roque, Odete Rodrigues; *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia*, 2ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2006.

Cunha, A. Proença da; Silva, Alda Pereira da; Roque, Odete Rodrigues; Cunha, Eunice; *Plantas e Produtos Vegetais em Cosmética e Dermatologia*, 3ª edição, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2011.

INFARMED, *Farmacopeia Portuguesa VIII*, 2005.

Silva, A; Araújo, P.V.; Almeida, J.D.; Clamote, F.; Carapeto, A.; *Juniperus communis L. - mapa de distribuição*; Flora-On: Flora de Portugal Interactiva, Sociedade Portuguesa de Botânica, 2015. Obtido em <http://www.flora-on.pt/#wJuniperus+communis> acedido em março de 2015.

Vários, *Plantas Aromáticas e Medicinais do Parque Natural da Serra da Estrela*, Guia Etnobotânico, CISE, Município de Seia.

ANEXO 3 – MONOGRAFIA DE *THYMUS MASTICHINA*

Bela-luz

Espécie

Thymus mastichina L.

Família

Lamiaceae.

Nomes vulgares em Portugal

Amor-de-deus, bela-luz, cabeças-de-homem, manjerona-brava, manjerona-de-espanha, sal-puro.

Distribuição Geográfica

É um endemismo ibérico, estando a subespécie *Thymus mastichina* subespécie *mastichina* amplamente difundido de norte a sul do país, formando por vezes, grandes manchas. Surge principalmente em matos e taludes soalheiros dos territórios mais quentes e secos e de maior influência mediterrânica.

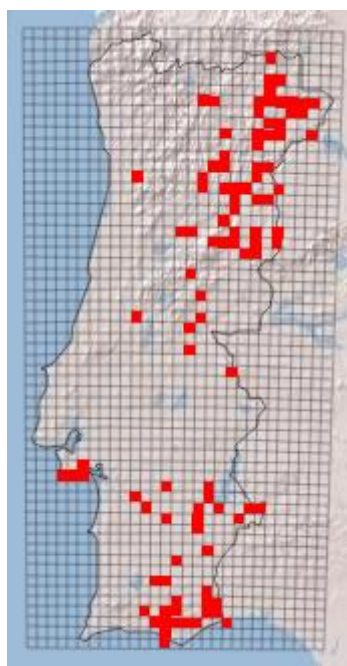


Figura 1 – Distribuição geográfica da Bela-luz em Portugal

Período de colheita

A bela-luz é colhida de abril a junho.

Partes da planta utilizadas

Toda a planta é utilizada.

Constituintes

Apresenta polimorfismo químico, sendo o cineol, o limoneno e o α -terpineol os compostos que predominam no óleo essencial.

Em Espanha obtém-se industrialmente desta subespécie um óleo essencial conhecido por manjerona-silvestre ou manjerona-brava, sendo cultivada para a obtenção do óleo essencial destinado à perfumaria. A ISO TC-57 tem uma norma sobre este óleo essencial, a ISO 4728:2003 “Oil of Spanish wild marjoram (*Thymus mastichina* L.)”, que o define como o óleo essencial obtido por destilação pelo vapor de água a partir das inflorescências de *Thymus mastichina* L., produzidas em diferentes locais de Espanha. De acordo com esta norma, os componentes representativos e característicos do óleo essencial devem ter os seguintes teores mínimos e máximos, em percentagem: α -pineno (1.0 e 4.5), β -pineno (2.0 e 5.0), limoneno (1.0 e 6.0), 1,8-cineol (30.0 e 68.0), linalol (3.0 e 48.0), cânfora (0.1 e 2.0), δ -terpineol (0.2 e 2.0), borneol (0.1 e 1.8), terpinen-4-ol (0.2 e 1.2), acetato de linalilo (0.2 e 4.0) e β -cariofileno (0.5 e 1.5).

Existe também a norma portuguesa sobre o quimiótipo linalólico desta espécie presente em Portugal, a NP 4183:1994, intitulada “Óleo essencial de mangerona-brava (*Thymus mastichina* L.), tipo linalólico. Características”, que o define como o óleo essencial obtido por destilação pelo vapor de água da parte aérea florida, seca, do *Thymus mastichina* L., muito frequente em Portugal. De acordo com esta norma os componentes representativos e característicos do óleo essencial devem ter os seguintes teores, mínimos e máximos, em percentagem: linalol (55.0 e 85.0) e 1,8-cineol (5.0 e 15.0).

Usos e Virtudes Medicinais

A bela-luz apresenta propriedades calmante e descongestionante.

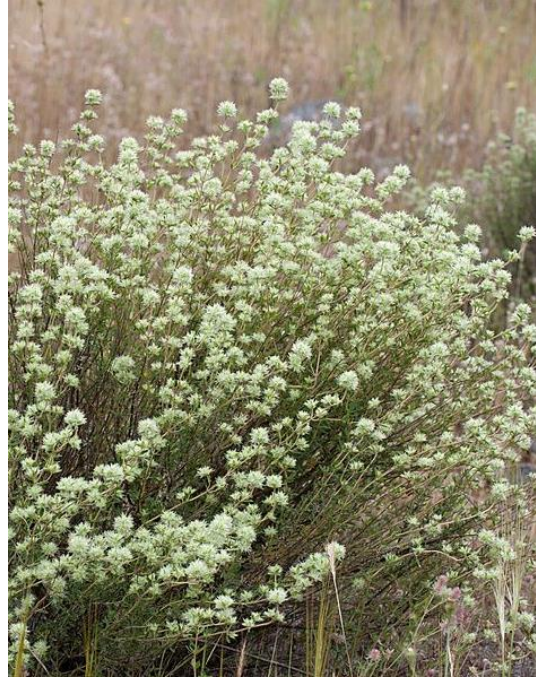
Formas de Administração

Externamente, deve-se gargarejar a infusão para promover o alívio de inflamações da boca e da faringe. As fricções, compressas e banhos são utilizados para casos de reumatismo e inchaços, assim como em problemas da pele.

Curiosidades e Usos Tradicionais

A bela-luz é uma planta aromática, medicinal e condimentar. Não passa despercebida pelo seu aroma, especialmente em dias quentes, quando o odor forte do seu óleo se espalha no ar. Esta espécie é muito utilizada como substituto do sal na cozinha.

Imagens de Bela-luz



Referências Bibliográficas

Cunha, A. Proença da; Roque, Odete Rodrigues; Nogueira, Maria Teresa; *Plantas Aromáticas e Óleos Essenciais Composição e Aplicações*, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2012.

Porto, M.; Carapeto, A.; Almeida, J.D.; Araújo, P.V.; Pereira, A.J.; Clamote, F.; Lourenço, J.; Marabuto, E.; *et al*; *Thymus mastichina L. – mapa de distribuição*. Flora-On: Flora de Portugal Interactiva, Sociedade Portuguesa de Botânica, 2015. Obtido em <http://www.flora-on.pt/#wThymus+mastichina> acedido em março de 2015.

Vários, *Plantas Aromáticas e Medicinais do Parque Natural da Serra da Estrela*, Guia Etnobotânico, CISE, Município de Seia.

ANEXO 4 – EQUIPAMENTOS

EQUIPAMENTO	FORNECEDOR
VISCOSÍMETRO	Fungilab (Barlelona)
TEXTURÓMETRO	Dias de Sousa (Portugal)
CENTRÍFUGA	(desconhecido)
MICROSCÓPIO ÓTICO	Zeiss (Portugal)
AXIOCAM ERCS5	Zeiss (Portugal)
FRIGORÍFICO	Samsung
ELÉCTRODO DE pH	Mettter Toledo (Portugal)
BALANÇA ANALÍTICA	Kern (Ballngen, Alemanha)
AGITADOR MAGNÉTICO COM AQUECIMENTO	Nahita (Madrid)
BANHO-MARIA	Pselecta (Barcelona)
MICROPIPETA (1000-5000)	Nichipet (Japão)
MICROPIPETA (100-1000)	Gilson (França)
MICROPIPETA (20-200)	Labnet (EUA)
TEMPORIZADOR	VWR (EUA)
VÓRTEX	Velp Scientifica (Itália)