

FIGURA 1. *Helichrysum italicum*. Foto: B. Vanaclocha.

Formulações com óleos essenciais: desenvolvimento de um lápis medicamentoso de *Helichrysum italicum*

Rita Palmeira-de-Oliveira ^{a, b}
Daniel Antunes Viegas ^a
Maria Helena Amaral ^c
Ana Palmeira-de-Oliveira ^a
Lígia Salgueiro ^d
Carlos Cavaleiro ^d
Luiza Breitenfeld ^a
José Martinez-de-Oliveira ^{a, e}

^a CICS-UBI – Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal.

^b Serviços Farmacêuticos, Centro Hospitalar Cova da Beira EPE, Covilhã, Portugal.

^c Departamento de Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

^d Centro de Estudos Farmacêuticos/ Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal.

^e Departamento da Saúde da Criança e da Mulher, Centro Hospitalar Cova da Beira EPE, Covilhã, Portugal.

Autor correspondente:

Rita Palmeira de Oliveira

CICS-UBI – Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior Av. Infante D. Henrique, 6200-506 Covilhã - Portugal
Email: rpo@fcsaude.ubi.pt

Resumo

A utilização de óleos essenciais como alternativa terapêutica em doenças de difícil tratamento tem vindo a ser investigada. Em situações específicas como as dermatoses vulvares e em particular o líquen escleroso, de etiologia desconhecida, os tratamentos actualmente disponíveis revelam-se frequentemente ineficazes na regeneração tecidual e até no alívio da sintomatologia, nomeadamente do prurido. O óleo essencial de *Helichrysum italicum* tem sido descrito como anti-alérgico, anti-inflamatório e regenerador cutâneo, mas até agora sem evidência científica segura. Estas propriedades tornam-no, porém, candidato à reversão daquelas dermatoses. Com o objectivo de desenvolver uma forma farmacêutica contendo óleo essencial de *H. italicum* com boas características para aplicação vulvar foram comparadas diferentes formulações de lápis medicamentosos compostos por ceras e óleos naturais caracterizados pela sua biocompatibilidade. O desenvolvimento de uma formulação estável e de fácil aplicação sob a forma de lápis revela-se uma abordagem terapêutica inovadora e de cómoda utilização no tratamento das dermatoses vulvares.

Palavras-chave

Óleo essencial, *Helichrysum italicum*, formulações vulvares, dermatoses vulvares, líquen escleroso vulvar, lápis medicamentoso.

Formulaciones con aceites esenciales: el desarrollo de un lápiz de *Helichrysum italicum*

Resumen

Se está investigando la utilización de aceites esenciales como alternativa terapéutica en determinadas enfermedades de difícil tratamiento. En dermatosis vulvares, como el liquen escleroso, cuya etiología es aún desconocida, las opciones terapéuticas disponibles son a menudo ineficaces en la regeneración de los tejidos y, a veces, incluso para controlar los síntomas, principalmente el prurito. Se ha descrito la actividad antialérgica, antiinflamatoria y regeneradora de la piel del aceite esencial de *Helichrysum italicum* y, aunque son necesarias nuevas investigaciones, estas propiedades hacen de este aceite esencial un candidato para el tratamiento de la dermatosis vulvares. Con el objetivo de desarrollar una forma farmacéutica conteniendo aceite esencial de *H. italicum* con buenas características para su aplicación vulvar, se compararon diferentes formulaciones de lápiz medicamentoso compuestas por ceras y aceites naturales, caracterizados por su biocompatibilidad. El desarrollo de una formulación estable y de fácil aplicación en forma de lápiz medicamentoso se revela como una forma de abordaje terapéutico de las dermatosis vulvares innovador y práctico.

Palabras clave

Aceite esencial, *Helichrysum italicum*, formulaciones vulvares, dermatosis vulvar, liquen escleroso vulvar, lápiz medicamentoso.

Formulations with essential oils: Development of an *Helichrysum italicum* medication stick

Abstract

The use of essential oils as therapeutic alternatives in diseases for which conventional therapies are ineffective is being investigated. In vulvar dermatosis such as lichen sclerosus, whose etiology is not yet understood, the available therapeutic options are often ineffective in regenerating the tissue and sometimes even in controlling symptoms, mainly pruritus. *Helichrysum italicum* essential oil has been described as having anti-allergic, anti-inflammatory and skin regenerating activity not yet fully scientifically confirmed. These properties turn this essential oil into a candidate for the treatment of vulvar dermatosis. Trying to find an easy to use and stable dosage form of *H. italicum* essential oil, we studied different formulations of medication sticks based on natural waxes and oils chosen for their biocompatibility profile. The development of an *H. italicum* medication stick with good technical qualities and stability stands as an innovative therapeutic approach to vulvar dermatosis.

Key words

Essential oil, *Helichrysum italicum*, vulvar formulations, vulvar dermatosis, vulvar lichen sclerosus, medication stick.

Introdução

O conhecimento da utilização tradicional de plantas com propriedades medicinais tem sido explorado numa perspectiva de selecção de alternativas terapêuticas para o tratamento de patologias em que as estratégias convencionais se revelam ineficazes⁽¹⁾. Os óleos essenciais, misturas complexas predominantemente compostas por terpenóides obtidos, na maioria das vezes, por destilação de diversas partes de plantas aromáticas, têm sido particularmente estudados na área farmacêutica no que respeita à sua bioactividade no contexto antimicrobiano^(2, 3), mas também, anti-inflamatório^(4, 5), analgésico^(6, 7), sedativo^(8, 9), anti-espasmódico^(10, 11) e anestésico local^(12, 13), entre outros⁽¹⁴⁾. Embora ainda se não tenha alcançado a total validação científica do conhecimento tradicional, estes estudos demonstram boa actividade terapêutica de óleos

essenciais em modelos *in vitro* e animais, tendo sido também posta em evidência a sua baixa citotoxicidade e, até mesmo, efeito anti-mutagénico⁽¹⁴⁾. Os efeitos biológicos dos óleos essenciais dependem essencialmente da sua composição química que se caracteriza por grande complexidade e pode ser influenciada por diversos factores, tais como o órgão da planta utilizado como fonte de extracção do óleo essencial e o método utilizado para o efeito, as condições climáticas e de cultivo da planta e o período em que é realizada a colheita^(5, 14).

Helichrysum Miller é um género que pertence à família *Asteraceae* e compreende mais de 600 espécies⁽¹⁵⁾, algumas das quais têm sido tradicionalmente utilizadas com fins medicinais, nomeadamente *H. italicum*, *H. stoechas*, *H. angustifolium* e *H. gymnocephalum*⁽¹⁶⁾. *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don (FIGURA 1), o mais frequentemente

utilizado, é um arbusto aromático, com cerca de 50-70 cm de altura, vulgarmente conhecido como “perpétua-das-areias”, “immortelle” ou “everlasting” e caracterizado por produzir flores de cor amarela. Vegeta em áreas secas, arenosas e rochosas das regiões mediterrânicas⁽¹⁷⁾, sendo utilizado tradicionalmente, sob a forma de infusão preparada a partir das suas inflorescências, para o tratamento de afecções respiratórias e digestivas^(18, 19). Foram identificadas três subespécies de *Helichrysum italicum*: *H. microphyllum* (originário das ilhas Baleares, Sardenha e Córsega); *H. serotinum* (Península Ibérica) e *H. italicum* (bacia mediterrânica)⁽²⁰⁾.

Estudos realizados com óleos essenciais ou outros extractos (e respectivos constituintes) obtidos a partir das diferentes subespécies de *H. italicum* têm posto em evidência as suas propriedades biológicas, sobretudo a nível anti-inflamatório⁽²¹⁻²³⁾, anti-oxidante^(22, 24), anti-alérgico, antimicrobiano^(16, 25, 26) e antiviral^(23, 27). Voinchet e Giraud-Robert obtiveram resultados muito positivos a nível da cicatrização, resolução de equimoses e da inflamação, com boa tolerabilidade, utilizando óleo essencial de *H. italicum* subsp. *serotinum* em doentes submetidos a cirurgia estética da face e do pescoço (por via oral) e do tórax (via oral e, posteriormente, por aplicação cutânea durante 2 a 3 meses)⁽¹⁶⁾.

A caracterização da actividade biológica particular de compostos isolados destes óleos essenciais e de outros extractos põe em evidência o seu contributo para a actividade global da mistura. Neste contexto, foi demonstrado, por exemplo, que: o geraniol aumenta a eficácia antibacteriana de quimioterápicos beta-lactâmicos, quinolonas e cloranfenicol⁽²⁶⁾; o arzanol tem propriedades anti-inflamatórias (por interferência na cascata do ácido araquidónico)⁽²⁶⁾, anti-oxidantes (em sistemas biológicos)⁽²⁴⁾ e antivirais (inibindo a replicação do HIV-1)⁽²³⁾; e o flavonóide tilirosídeo apresenta propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas, anti-oxidantes e anti-tumorais⁽²⁹⁾.

Estas especificidades demonstram a importância da caracterização da composição química dos óleos essenciais e de outros extractos obtidos das várias subespécies de *H. italicum*. No que respeita ao óleo essencial, pelo menos três quimiotipos de *H. italicum* subs. *italicum* foram identificados⁽¹⁵⁾: um caracterizado por elevada percentagem de compostos monoterpénicos como acetato de nerilo, propanoato de nerilo e α -pineno^(15, 20, 30), um segundo caracterizado por elevada percentagem de geraniol e acetato de geraniol, proveniente de plantas de origem grega^(15, 25) e um terceiro em que os compostos sesquiterpénicos se



FIGURA 2. *Helichrysum italicum*. Foto: B. Vanaclocha.

revelaram maioritários⁽³⁰⁾. Bianchini *et al.* estudaram a influência dos factores ambientais e da fase de desenvolvimento vegetativo da planta na composição química do óleo essencial de *H. italicum* subsp. *italicum* pondo em evidência a ocorrência de elevadas diferenças intra-específicas directamente relacionadas com os factores ambientais, particularmente no que respeita às características do solo de cultivo⁽³¹⁾. Estes factores devem ser tomados em linha de conta quando se pretende a obtenção de óleos essenciais como substância activa para fins terapêuticos.

Afecções caracterizadas por elevada prevalência e recorrência ou refractárias às terapêuticas actualmente disponíveis surgem como área de trabalho preferencial para o estudo da actividade destas alternativas. O líquen escleroso é um exemplo claro de doença de difícil tratamento. Embora a sua etiologia ainda não seja conhecida, pensa-se que poderá estar ligado a uma componente genética e auto-imune, ocorrendo preferencialmente na região anogenital masculina e feminina^(32, 33). O líquen escleroso é mais pre-



FIGURA 3. *Helichrysum italicum*. Foto: B. Vanaclocha.

valente nas mulheres⁽³²⁾ e afecta, mais frequentemente, os grandes e pequenos lábios, o clítoris, o períneo e a região perianal, podendo surgir em qualquer faixa etária⁽³³⁾, mas predominando após a quarta década de vida. O diagnóstico primariamente clínico é confirmado por análise histológica de tecido colhido por biopsia que revela atrofia do epitélio frequentemente associada a hiperqueratinização, sendo muito característica a existência de um infiltrado dérmico de células inflamatórias crónicas sob a camada epitelial escamosa⁽³³⁾. Embora possa ocorrer de forma assintomática, o líquen escleroso provoca frequentemente prurido e ardência, equimoses e fissuração, comprometendo a qualidade de vida das doentes. A terapêutica de primeira linha é a corticoterapia tópica de elevada potência, que pode conduzir a efeitos adversos ao nível da atrofia do epitélio, quando utilizada de forma prolongada. Outras abordagens terapêuticas, tais como a utilização tópica, na forma de pomadas de imunomoduladores (tacrolimus e pimecrolimus), hormonas e retinóides e, em casos extremos, intervenção cirúrgica, têm sido utilizadas com diferentes níveis

de sucesso e perfis de segurança⁽³³⁾. Contudo, não existe actualmente disponível uma terapêutica totalmente eficaz no tratamento e controlo de sintomas do líquen escleroso.

Dado o potencial anti-inflamatório e restantes actividades biológicas do óleo essencial de *H. italicum*, este afigura-se como uma substância potencialmente activa no tratamento desta doença, desde que adequadamente veiculado tendo em vista a aplicação vulvar.

Os lápis medicamentosos constituem uma forma farmacêutica relativamente pouco utilizada na terapêutica. A Farmacopeia Portuguesa 9.3 define lápis como «preparações sólidas para uso local, de forma cilíndrica ou cônica, constituídos por uma ou várias substâncias activas; podem ser utilizados tal como se apresentam, ou dissolvidos ou dispersos num excipiente simples ou composto que pode ser solúvel ou fundir à temperatura corporal»³⁴. Embora em Portugal apenas se encontrem classificados como medicamentos e aprovados pelo Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento, lápis para uso uretral (nomeadamente o Muse®, cuja substância activa é o alprostadil, indicado no tratamento da disfunção erétil) existem outros produtos disponíveis no mercado que correspondem a esta definição da Farmacopeia Portuguesa, incluindo formulações à base de plantas ou seus derivados (TABELA 1).

De acordo com a constituição base que condiciona as suas propriedades físicas, os lápis medicamentosos podem ser classificados em duros ou moles. Os lápis duros caracterizam-se por possuírem uma estrutura cristalina com elevada concentração de substância activa na extremidade, necessitando de ser humedecidos antes da aplicação e são mais frequentemente utilizados como hemostáticos (lápis estípticos). Pelo contrário, os lápis moles são semelhantes aos batons cosméticos sendo constituídos por ceras, óleos ou polímeros lineares (como os polietilenoglicóis) fundindo ou amolecendo facilmente à temperatura corporal, o que contribui para a sua facilidade de aplicação. A obtenção de um efeito local depende da utilização de bases simples como as anteriormente referidas. Contudo, a introdução de um excipiente promotor da absorção pode conduzir a efeitos sistémicos por absorção transdérmica da substância activa. Lápis moles (*batons*) veiculando agentes anti-víricos (destinados ao tratamento do Herpes labial), anestésicos locais e antibióticos são exemplos de aplicações práticas desta forma farmacêutica^(35, 36).

No desenvolvimento de um lápis medicamentoso a selecção da base mais apropriada depende em primeiro lugar do tipo de solubilidade pretendida (uma base hidrófoba será

Nome Comercial	Produtor	Tipo de produto	Planta	Excipientes	Indicação publicitada
Echinacin Stick Labial®	Madaus GmbH, Alemanha	Extracto óleo de semente	<i>Echinacea pupurea</i> ; <i>Vitis vinifera</i>	Octidodecanol; estearato de alquilo C20-C40; óleo de palma hidrogenado; octil metoxicenamato; óleo de rícino; 4-metilbenzilideno cânfora; metoxidi-benzoilmetano; cera de candelila; cera de abelhas; lecitina; bisabolol; perfume; palmitato de ascorbilo; corante; tocoferol	Protector e emoliente para os lábios
Arnidol®	Laboratórios Diafarm S.A., Espanha	Extracto	<i>Arnica montana</i> ; <i>Harpagophytum procumbens</i>	Propilenoglicol; água; butilenoglicol; estearato de sódio; hidroxiethylcelulose; fenoxietanol; parabenos; corante	Hematomas
Arnistick®	Laboratoires Evolupharm, França	Extracto	<i>Arnica montana</i>	Propilenoglicol; água; estearato de sódio; glicerina; butilenoglicol; PPG-3 éter miristil; <i>C12-13 Pareth-9</i> ; cetearato-25; metilparabeno	Hematomas
Stick Labial Reparador®	Laboratoires Klorane, França	Extracto	<i>Populus nigra</i>	Óleo de rícino; palmitato de isopropilo; lanolina hidrogenada; vaselina; ozokerite; parafina líquida; óleo de rícino hidrogenado; cera branca de abelhas; ésteres cetílicos; bis-diglicerilpolis-ciadipato-2; perfume; poliisobuteno hidrogenado; linoleato de glicerilo; álcool cetearílico; etilhexanoato; mica; manteiga de carité; miristato de isopropilo; propilparabeno; glicirretinato estearílico; dióxido de titânio; acetato de tocoferol	Protector e reparador dos lábios

TABELA 1. Exemplos de lápis cutâneos à base de plantas ou seus derivados disponíveis no mercado português.

obtida a partir de ceras e óleos, enquanto uma base hidrófila poderá desenhar-se por utilização de polietilenoglicóis) e posteriormente da proporção relativa dos excipientes seleccionados visto que dela dependerão a textura, a viscosidade, a dureza e o ponto de fusão do produto final ⁽³⁷⁾.

Para além da facilidade de aplicação, esta forma farmacéutica apresenta ainda como vantagens a sua portabilidade, possibilidade de preparação extemporânea, conveniência para aplicação em pequenas zonas e elevada estabilidade e biocompatibilidade directamente relacionadas com os excipientes seleccionados.

Neste trabalho apresentamos o desenvolvimento de um lápis medicamentoso adaptado à aplicação vulvar como

uma abordagem terapêutica inovadora para doenças aí localizadas. No sentido de propor uma nova alternativa de tratamento do líquen escleroso, com elevado perfil de aceitabilidade, foram desenvolvidas diferentes formulações de lápis constituídos por ceras e óleos naturais, veiculando óleo essencial de *H. italicum*. As formulações foram comparadas no que respeita à sua dureza e características organolépticas de modo a serem seleccionadas as formulações mais adaptadas à aplicação vulvar.

Material e métodos

Foram utilizados como excipientes base das diferentes formulações: Cera Branca de Abelhas (Acofarma, Espanha), Cera de Carnaúba (J. Vaz Pereira S.A., Portugal), Vaselina

Branca e Lanolina (VWR, Bélgica), Manteiga de Cacau (Vincilab, Portugal) e Óleo de Rícino (F.J. Campos, Portugal).

O óleo essencial de *Helichrysum italicum* foi adquirido à empresa certificada Planalto Dourado, exploração agrícola Lda. (Pinhel, Portugal), tendo sido obtido a partir de plantas cultivadas (agricultura biológica) em Portugal.

Preparação dos lápis: as diferentes formulações de lápis foram preparados por fusão dos excipientes a 87°C em banho de água estabilizado e posterior adição, sob agitação, do óleo de rícino, de acordo com as proporções preconizadas em cada formulação. A mistura foi vertida para moldes metálicos de 12 mm de diâmetro interno, tendo sido utilizado um excesso de modo a prevenir a ocorrência de irregularidades à superfície dos lápis, e deixada a solidificar à temperatura ambiente.

A partir das formulações preparadas procedeu-se à selecção de duas para veicular o óleo essencial, que foram preparadas como anteriormente descrito com diluição do óleo essencial no óleo de rícino, previamente à sua adição à mistura de excipientes. Foram produzidas simultaneamente preparações base e outras contendo óleo essencial em moldes individuais de diâmetro interno de 13,7 mm, diferentes dos utilizados nas preparações anteriores. Os lápis foram retirados dos moldes, no mínimo, 24 horas após a preparação e acondicionados em embalagens opacas semelhantes às embalagens de *batons* cosméticos.

Determinação da dureza das formulações: a dureza das formulações foi avaliada através da determinação da Força Máxima (em Newtons) necessária para penetrar na amostra, realizada em Texturómetro Stable Micro Systems TAXT2i, utilizando uma sonda metálica de 2 mm de diâmetro (P/2) nas seguintes condições de ensaio: ensaio em modo de compressão, velocidade pré-teste, teste e pós-teste de 3 mm/s, distância de penetração de 2 mm, *trigger force* de 0,05 N. Para cada amostra foram realizadas, no mínimo, 3 determinações. Para cada formulação foram analisadas duas amostras.

Avaliação das características organolépticas: o aspecto, cor e odor dos lápis desenvolvidos foram avaliados ao longo do estudo, bem como a sensação de contacto e quantidade aparente de produto aplicado na pele.

Ensaio de estabilidade acelerada: para avaliar o comportamento das formulações seleccionadas a mudanças bruscas de temperatura, as amostras foram submetidas a ciclos de temperatura, com variações entre os 4°C e 40°C

a cada 24 h, durante 7 dias. Findo esse tempo as amostras foram colocadas em estufa a 20°C, durante 48 h. As características organolépticas das formulações foram avaliadas ao longo de todo o estudo. A dureza foi avaliada antes e depois do ensaio (incluindo as 48 h a 20°C). Os parâmetros foram comparados entre si e com os iniciais.

Resultados e discussão

Pela conjugação de vários excipientes em diferentes proporções foram desenvolvidas 6 formulações diferentes de lápis (TABELA 2). Após preparação e solidificação os lápis foram observados quanto ao seu aspecto e sensação de aplicação na pele tendo-se verificado que as formulações maioritariamente constituídas por vaselina branca e óleo de rícino (F3, F5 e F6) apresentavam cor branca opaca, sensação muito gordurosa ao tacto e muito baixa consistência, sendo muito difícil a sua remoção intacta dos moldes e originando a aplicação de quantidades elevadas e irregulares de produto na pele. Pelo contrário, a formulação contendo lanolina (F1) solidificou com relativa facilidade e não apresentou aspecto gorduroso. Contudo, exigia elevada pressão na aplicação por se apresentar muito endurecida. A sua coloração era amarelada e apresentava um odor característico a cera.

A formulação F2 também apresentou rápida solidificação, cor amarelada e odor a cera. Quando aplicada na pele, a sua consistência revelou-se inferior à da formulação F1, fornecendo maior quantidade de produto e melhor sensação ao tacto. Por fim, a formulação F4, contendo manteiga de cacau apresentou-se com aspecto semelhante à formulação anterior mas com o odor característico da manteiga de cacau. Durante a aplicação revelava menor firmeza e maior facilidade de aplicação.

As determinações de dureza das formulações base foram realizadas sem retirar os lápis do molde, dada a dificuldade de manuseamento das formulações contendo vaselina branca e confirmam as observações anteriormente descritas (FIGURA 4). Verificou-se que a força máxima exercida pela sonda foi muito inferior para as formulações F3, F5 e F6 (< 0,600 N), semelhante para as formulações F2 e F4 (próximas de 3,5N) e superior para a formulação F1 (4,7 N).

As formulações F3, F5 e F6 revelaram-se, assim, demasiado moles e sem características adequadas à forma farmacêutica pretendida tendo, por isso, sido rejeitadas. A formulação F1 revelou-se demasiado dura uma vez que se pretende que, durante uma aplicação suave, seja fornecida

dose suficiente de medicamento em toda a extensão da pele. De acordo com os resultados apresentados, foram seleccionadas como formulações passíveis de veicular o óleo essencial as formulações F2 e F4 (TABELA 3).

Verificou-se que a incorporação do óleo essencial de *H. italicum* na massa hidrófoba fundida tem de ser realizada a temperaturas superiores a 40° C, uma vez que a esta temperatura ocorre a solidificação dos lápis. Por este motivo, não é possível descartar a possibilidade de ocorrer, em alguma extensão, volatilização da substância activa, pelo que a determinação do teor de óleo essencial na formulação final, bem como a sua evolução ao longo do tempo e a influência das condições de armazenamento fornecerão dados importantes acerca da eventual necessidade de utilizar um excesso controlado de óleo nas formulações para garantir a concentração final desejada.

Foram verificadas variações nos valores de dureza das formulações (F2 e F4) com a alteração dos moldes seleccionados para a preparação dos lápis, factor que põe em evidência a necessidade de uma correcta selecção dos materiais de acondicionamento e das condições experimentais para a obtenção da consistência desejada e reprodutibilidade de resultados.

Os resultados de dureza dos lápis obtidos por incorporação do óleo essencial de *H. italicum* comparativamente com as formulações base preparadas em paralelo estão expressos na FIGURA 5 (t0). Não se verificou uma diferença significativa na dureza da formulação F2 devido à incorporação do óleo essencial, ao contrário do ocorrido com a formulação F4 em que se observou uma diminuição significativa deste parâmetro (FIGURA 3).

Durante o ensaio de estabilidade acelerada verificou-se que, para a formulação F2, não ocorreu evidente alteração do aspecto quando submetida a temperaturas de 40° C, ao contrário da formulação F4 que apresentou imediata diminuição de consistência, rapidamente recuperada quando submetida a temperatura inferior. Esta observação é explicada pelo conteúdo da formulação F4 em manteiga de cacau, cujo ponto de fusão ronda os 34,5° C, o qual influencia o ponto de fusão global desta formulação. As restantes características organolépticas (cor e odor) não se alteraram ao longo do ensaio para nenhuma das formulações testadas.

Após a realização dos ciclos de temperatura, a dureza das amostras foi novamente avaliada tendo-se verificado a

diminuição deste parâmetro para todas as amostras testadas (FIGURA 5).

Quando comparadas as formulações base verifica-se que para a formulação F2 a diminuição de dureza após o ensaio de estabilidade acelerada não foi muito acentuada, o que põe em evidência a sua maior estabilidade quando comparada com a formulação F4. Os excipientes seleccionados para cada uma das formulações podem, novamente, justificar o seu diferente comportamento quando submetidas a temperaturas extremas: a formulação F2 inclui cera de carnaúba, caracterizada por elevado ponto de fusão (81-

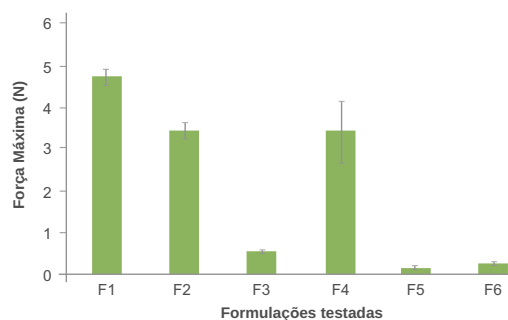


FIGURA 4. Estudo comparativo da dureza das formulações base desenvolvidas. As barras representam o valor médio e as linhas o desvio padrão das determinações.

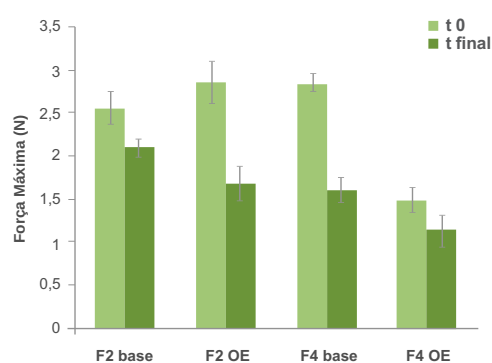


FIGURA 5. Determinação da dureza das formulações F2 e F4 antes e depois do ensaio de estabilidade acelerada. Durante 7 dias os lápis foram submetidos a ciclos de temperatura, com variações entre os 4° C e 40° C a cada 24 h. t0: determinações antes do ensaio; t final: determinações após o ensaio. As barras representam o valor médio e as linhas o desvio padrão das determinações.

Formulação	Excipientes utilizados (%)					
	Cera de Abelhas	Cera de Carnaúba	Vaselina Branca	Óleo de Rícino	Lanolina	Manteiga de Cacau
F1	20	10	0	65	5	0
F2	20	10	20	50	0	0
F3	20	0	30	50	0	0
F4	15	0	0	60	0	25
F5	10	0	40	50	0	0
F6	10	0	30	60	0	0

TABELA 2. Proporção dos excipientes utilizados nas formulações base desenvolvidas.

Formulação	Excipientes utilizados (%)					
	Cera de Abelhas	Cera de Carnaúba	Vaselina Branca	Óleo de Rícino	Manteiga de Cacau	Óleo essencial de <i>H. italicum</i>
F2 base	20	10	20	50	0	0
F2 OE	20	10	20	49	0	1
F4 base	15	0	0	60	25	0
F4 OE	15	0	0	59	25	1

TABELA 3. Formulações seleccionadas para incorporação do óleo essencial e testes de estabilidade.

86°C) e não contém manteiga de cacau, excipiente que está presente na formulação F4 (ponto de fusão de 30-35°C). Assim, a primeira formulação caracteriza-se por uma maior estabilidade em função da temperatura. De facto, a consistência final das formulações e a sua variação com a temperatura são parâmetros relacionados com a natureza e proporção relativa das ceras e óleos seleccionados para utilização na sua formulação^(36, 37).

A introdução do óleo essencial na formulação F2 tornou-a mais sensível às alterações bruscas de temperatura, como é evidenciado pela diminuição marcada da dureza dos lápis contendo óleo essencial relativamente às medições iniciais (FIGURA 5). Deste modo, verifica-se que, embora o óleo essencial esteja presente apenas na concentração de 1%, as características de dureza da formulação ficam claramente afectadas embora esta variação não fosse evidente apenas pela avaliação das características organolépticas da formulação.

Para a formulação F4 a diminuição da dureza da formulação contendo óleo essencial após o ensaio de estabilidade não é tão evidente. Contudo, deve ser tido em conta que, para esta formulação, o parâmetro de dureza inicial é muito inferior ao da formulação base, apenas como resultado da introdução do óleo essencial. Assim sendo, também para a formulação F4 se põe em evidência a influência do óleo essencial na formulação, mesmo em baixas concentrações.

Pela análise comparativa das formulações contendo óleo essencial verifica-se que a formulação F2 resiste melhor ao aumento da temperatura relativamente à temperatura ambiente (25°C), podendo ser preferível para aplicação medicamentosa, tendo em conta a sua utilização durante todo o ano. Por outro lado, embora a formulação F2 se tenha demonstrado relativamente mais sensível a mudanças bruscas de temperatura, a sua dureza manteve-se sempre superior à da formulação F4 (FIGURA 5).



FIGURA 6. Lápis das Formulações 2 (esquerda) e 4 (direita). Foto: Daniel Antunes Viegas.

Conclusões e perspectivas futuras

O trabalho realizado permitiu o desenvolvimento de duas formulações de lápis medicamentosos contendo óleo essencial de *Helichrysum italicum* com boas características para aplicação vulvar, no que respeita às suas propriedades organolépticas e dureza.

A realização de ensaios de estabilidade a longo prazo, ensaios direccionados para a determinação da dose de óleo essencial aplicada com cada uma das formulações desenvolvidas e a sua caracterização no que respeita ao conteúdo em óleo essencial (no momento da preparação e ao longo do tempo de armazenamento) estão já em desenvolvimento para permitir a selecção final da formulação mais adequada. Esta será testada *in vivo*, em doentes com líquen escleroso, de localização vulvar, refractário às terapêuticas convencionais.

Dada a sua composição biocompatível e as suas vantagens de aplicação, o lápis vulvar surge como uma abordagem inovadora e alternativa promissora no tratamento do líquen escleroso.

Referências bibliográficas

1. Campos HC, da Rocha MD, Viegas FP, Nicastro PC, Fossaluzza PC, Fraga CA, et al. The role of natural products in the discovery of new drug candidates for the treatment of neurodegenerative disorders I: Parkinson's disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2011; 10 (2): 239-250.

2. Palmeira-de-Oliveira A, Salgueiro L, Palmeira-de-Oliveira R, Martinez-de-Oliveira J, Pina-Vaz C, Queiroz J A, et al. Anti-Candida activity of essential oils. *Mini Rev Med Chem* 2009; 9 (11): 1292-1305.

3. Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties--an overview. *Forsch Komplementmed* 2009; 16 (2): 79-90.

4. Torres Salazar A, Hoheisel J, Youns M, Wink M. Anti-inflammatory and anti-cancer activities of essential oils and their biological constituents. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2011; 49 (1): 93-95.

5. Miguel MG. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules* 2010; 15 (12): 9252-9287.

6. Raymundo LJ, Guilhon CC, Alviano DS, Matheus M E, Antonioli AR, Cavalcanti SC, et al. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of the *Hyptis pectinata* (L.) Poit essential oil. *J Ethnopharmacol* 2011; 134 (3): 725-732.

7. Guilhon CC, Raymundo LJ, Alviano DS, Blank AF, Arrigoni-Blank MF, Matheus ME, et al. Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. *J Ethnopharmacol* 2011(em impressão).

8. Ito K, Ito M. Sedative effects of vapor inhalation of the essential oil of *Microtoena patchoulii* and its related compounds. *J Nat Med* 2011; 65 (2): 336-343.

9. Guo J, Duan J A, Tang Y, Jia N, Li X, Zhang J. Fast onset of action and the analgesic and sedative efficacy of essential oil from *Rhizoma Chuanxiong* after nasal administration. *Pharmazie* 2010; 65 (4): 296-299.

10. de Sousa AA, Soares PM, de Almeida AN, Maia AR, de Souza EP, Assreuy AM. Antispasmodic effect of *Mentha piperita* essential oil on tracheal smooth muscle of rats. *J Ethnopharmacol* 2010; 130 (2): 433-436.

11. Leonhardt V, Leal-Cardoso JH, Lahlou S, Albuquerque AA, Porto RS, Celedonio NR, et al. Antispasmodic effects of essential oil of *Pterodon polygalaeflorus* and its main constituent beta-caryophyllene on rat isolated ileum. *Fundam Clin Pharmacol* 2010; 24 (6): 749-758.

12. Ghelardini C, Galeotti N, Salvatore G, Mazzanti G. Local anaesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. *Planta Med* 1999; 65 (8): 700-703.

13. Zalachoras I, Kagiava A, Vokou D, Theophilidis G. Assessing the local anesthetic effect of five essential oil constituents. *Planta Med* 2010; 76 (15): 1647-1653.

14. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem Toxicol* 2008; 46 (2): 446-475.

15. Morone-Fortunato I, Montemurro C, Ruta C, Perrini R, Sabetta W, Blanco A, et al. Essential oils, genetic relationships and *in vitro*

- establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *italicum* from wild Mediterranean germplasm. *Ind Crops Prod* 2010; 32: 639-649.
16. Voinchet V, Giraud-Robert AM. Utilisation de l'huile essentielle d'hélichryse italienne et de l'huile végétale de rose musquée après intervention de chirurgie plastique réparatrice et esthétique. *Phytothérapie* 2007 (2): 67-72.
 17. Nostro A, Bisignano G, Angela Cannatelli M, Crisafi G, Paola Germano M, Alonzo V. Effects of *Helichrysum italicum* extract on growth and enzymatic activity of *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents* 2001; 17 (6): 517-520.
 18. Passalacqua NG, Guarrera PM, De Fine G. Contribution to the knowledge of the folk plant medicine in Calabria region (Southern Italy). *Fitoterapia* 2007; 78 (1): 52-68.
 19. Benitez G, Gonzalez-Tejero MR, Molero-Mesa J. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): ethnopharmacological synthesis. *J Ethnopharmacol* 2010; 129 (1): 87-105.
 20. Paolini J, Desjoberg JM, Costa J, Bernardini AF, Castellini CB, Cioni PL, et al. Composition of essential oils of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don fil subsp. *italicum* from Tuscan archipelago islands. *Flavour Fragr J* 2006; 21: 805-808.
 21. Sala A, Recio MC, Giner RM, Manes S, Rios JL. New acetophenone glucosides isolated from extracts of *Helichrysum italicum* with anti-inflammatory activity. *J Nat Prod* 2001; 64 (10): 1360-1362.
 22. Sala A, Recio MC, Schinella GR, Manes S, Giner RM, Cerdá-Nicolas M, Rios JL. Assessment of the anti-inflammatory activity and free radical scavenger activity of tiliroside. *Eur J Pharmacol* 2003; 461 (1): 53-61.
 23. Appendino G, Ottino M, Marquez N, Bianchi F, Giana A, Ballero M, et al. Arzanol, an anti-inflammatory and anti-HIV-1 phloroglucinol alpha-pyrone from *Helichrysum italicum* ssp. *microphyllum*. *J Nat Prod* 2007; 70 (4): 608-12.
 24. Rosa A, Pollastro F, Atzeri A, Appendino G, Melis MP, Deiana M, et al. Protective role of arzanol against lipid peroxidation in biological systems. *Chem Phys Lipids* 2010; 164 (1): 24-32.
 25. Chinou I B, Roussis V, Perdetzoglou D, Loukis A. Chemical and biological studies on two *Helichrysum* species of Greek origin. *Planta Med* 1996; 62 (4): 377-9.
 26. Lorenzi V, Muselli A, Bernardini AF, Berti L, Pages JM, Amaral L, et al. Geraniol restores antibiotic activities against multidrug-resistant isolates from gram-negative species. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53 (5): 2209-11.
 27. Nostro A, Cannatelli MA, Marino A, Picerno I, Pizzimenti FC, Scoglio ME, et al. Evaluation of antiherpesvirus-1 and genotoxic activities of *Helichrysum italicum* extract. *New Microbiol* 2003; 2 (1): 125-8.
 28. Bauer J, Koeberle A, Dehm F, Pollastro F, Appendino G, Northoff H, et al. Arzanol, a prenylated heterodimeric phloroglucinyl pyrone, inhibits eicosanoid biosynthesis and exhibits anti-inflammatory efficacy in vivo. *Biochem Pharmacol* 2011; 81 (2): 259-68.
 29. Sun DX, Lu JC, Fang ZZ, Zhang YY, Cao YF, Mao YX, et al. Reversible inhibition of three important human liver cytochrome p450 enzymes by tiliroside. *Phytother Res* 2010; 24 (11): 1670-5.
 30. Bianchini A, Tomi P, Costa J, Bernardini AF. Composition of *Helichrysum italicum* G. Don fil. subsp. *italicum* essential oils from Corsica (France). *Flavour Fragr J* 2001; 16: 30-34.
 31. Bianchini A, Santoni F, Paolini J, Bernardini AF, Mouillot D, Costa J. Partitioning the relative contributions of inorganic plant composition and soil characteristics to the quality of *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* (Roth) G. Don fil. essential oil. *Chem Biodivers* 2009; 6 (7): 1014-1033.
 32. Pugliese JM, Morey AF, Peterson AC. Lichen sclerosis: review of the literature and current recommendations for management. *J Urol* 2007; 178 (6): 2268-2276.
 33. Smith YR, Haefner HK. Vulvar lichen sclerosis: pathophysiology and treatment. *Am J Clin Dermatol* 2004; 5 (2): 105-125.
 34. Farmacopeia Portuguesa. 9.3 ed. 2009: Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento. INFARMED.
 35. Shaikh S, Bhise K. Formulation and evaluation of medicated lipstick of allantoin. *Asian J Pharm* 2008; 2 (2): 95-98.
 36. Allen LVJ. Basics of Compounding: Compounding Medication Sticks. *The Int J Pharm Compound* 2000 (Jan/Feb): 44.
 37. Bono A, Mun H C, Rajin M. Effect of various formulation on viscosity and melting point of natural ingredient based lipstick. *Stud Surf Sci Catal* 2006; 159: 693-696.



SEFIT

SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE FITOTERAPIA

visite nuestra nueva página web

www.sefit.es