



**UNIVERSIDADE DO ALGARVE**

Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Género *Lavandula* L.: Usos, tradições e estudos de espécies portuguesas**

Jéssica Alexandra Santos Vairinhos

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da Professora Doutora Maria Graça Costa Miguel e coorientação da Professora Doutora Olga Maria Duarte Silva

2017

**UNIVERSIDADE DO ALGARVE**

Faculdade de Ciências e Tecnologia

**Género *Lavandula* L.: Usos, tradições e  
estudos de espécies portuguesas**

Jéssica Alexandra Santos Vairinhos

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da Professora Doutora Maria Graça Costa  
Miguel e coorientação da Professora Doutora Olga Maria Duarte Silva

2017

## **Declaração de autoria de trabalho**

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Jéssica Vairinhos

© 2017 Jéssica Alexandra Santos Vairinhos

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

*“Rosmaninho que me deram,  
Rosmaninho que darei,  
Todo o mal que me fizeram  
Será o bem que eu farei.”*

***Fernando Pessoa***

## **Agradecimentos**

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos excelentes professores do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Universidade do Algarve por todos os ensinamentos transmitidos ao longo deste percurso e pela dedicação constante.

À Professora Doutora Maria Graça Costa Miguel quero deixar o mais sincero agradecimento por ter aceitado orientar-me nesta caminhada e, especialmente, por toda a sua dedicação, apoio constante, disponibilidade e compreensão.

À Professora Doutora Olga Maria Duarte Silva agradeço a prontidão com que aceitou coorientar esta dissertação e todas as ideias e conhecimentos transmitidos.

Aos meus padrinhos académicos, Catarina Almeida e Jorge Pontes, por me terem “dado na cabeça”, por todos os ensinamentos e, sobretudo, por todo o carinho.

A todos os colegas que enriqueceram, de alguma forma, o meu percurso académico e, em particular, aos que se revelaram verdadeiros amigos. Por isso, agradeço à Alina Secrieru, Ana Sofia Bota, Catarina Carrilho, Cláudia Reis, Inês Afonso, Maria Inês Pinho e Patrícia Silva por me terem integrado tão bem no vosso “clã” e por terem marcado um ponto de viragem na minha vida académica, sem vocês esta caminhada tinha sido muito mais árdua. Obrigada por terem trazido mais brilho à minha vida.

Não poderia deixar de fazer um agradecimento especial à Ana Cláudia, Andreia Labaredas, Catarina Marreiros, João Rafael e Maria Romanciuc por serem mais do que amigos. Obrigada por me “puxarem sempre para cima”, por toda a cumplicidade, compreensão e carinho.

Por último quero agradecer à minha família e, em concreto, às pessoas mais importantes da minha vida, a minha mãe, irmã, Guida e Carlos, por serem os seres humanos extraordinários que são e por todo o amor e apoio incondicional. Obrigada por tudo, sem vocês nada disto seria possível.

## Resumo

Desde os primórdios da história da humanidade que as plantas têm sido utilizadas como uma fonte crucial de matéria médica. Na verdade, o desenvolvimento da indústria farmacêutica e o domínio dos fármacos sintéticos não foram fatores impeditivos da coexistência até ao presente de fármacos de origem vegetal.

A partir do estudo do uso tradicional das plantas foi possível descobrir uma série de novos fármacos, que se tornaram de grande sucesso e que continuam a ser mundialmente utilizados. Dos inúmeros casos de sucesso, importa salientar a descoberta da quinina, morfina, salicina, vincristina e vimblastina, etoposido e teniposido. Torna-se, portanto, evidente a continua importância das plantas como fonte de novos fármacos, o que impulsiona o desenvolvimento de uma área científica – a etnofarmacologia – que se define como a exploração científica interdisciplinar dos agentes ativos, tradicionalmente utilizados ou observados pelo Homem e cujo objetivo engloba a validação do uso concreto de plantas no tratamento de diferentes patologias.

Nas últimas duas décadas, o número de estudos etnofarmacológicos tem aumentado, nomeadamente em Portugal, como por exemplo os estudos que têm sido desenvolvidos sobre as espécies portuguesas de *Lavandula* L.. Este género de plantas integra três espécies conhecidas localmente como “rosmaninho” - *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav., *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira e *Lavandula viridis* L'Hér.. Existem diversos relatos da utilização destas espécies na medicina tradicional para as mais variadas patologias, o que tem incentivado vários estudos, nomeadamente em Portugal, com o intuito de encontrar dados científicos relativos à validação do uso concreto do rosmaninho, nomeadamente investigação da atividade biológica de extratos e óleos essenciais.

Esta dissertação tem, então, como principal objetivo inferir acerca da existência de estudos científicos que consigam validar o uso concreto do rosmaninho no tratamento das diversas patologias para que é tradicionalmente utilizado e concluir se, no futuro, é promissor apostar nesta área de estudo.

**Palavras-chave:** Etnofarmacologia, fármacos, *Lavandula* L., medicina tradicional, plantas, rosmaninho.

## Abstract

Since the beginning of human history, plants have been used as a main source for raw material on the medical field. As a matter of fact, drugs derived from plants have such a strong position that not even the development of the pharmaceutical industry and new synthetic drugs were able to take their place.

The study of traditional plants provided the discovery of many new successful drugs, which remain greatly and widely used across the world nowadays. Out of all these cases, quinine, morphine, salicin, vincristine and vinblastine, etoposide and teniposide's discoveries should be highlighted. Therefore, the importance of plants as drug sources is clear, which lead to the development of a new scientific area – ethnopharmacology – an interdisciplinary scientific exploration of biologically active agents, traditionally employed or observed by man, used to validate certain plants as therapeutic indications for different pathologies.

In the last couple of decades, the number of ethnopharmacology studies has been growing, namely in Portugal, for instance on the Portuguese species of *Lavandula* L. This specific genus encompasses three species locally known as “rosmaninho”, *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav., *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira and *Lavandula viridis* L'Hér.. There are many reports on the use of these species addressed to several pathologies, regarding traditional medicine. Thereby, the amount of studies concerning this topic, particularly in Portugal, has been increasing, aiming to find scientific data towards the validation of the specific use of “rosmaninho” mainly through the research of extracts and essential oils biologic activity.

This thesis aims to conclude on the existence of different scientific studies on “rosmaninho”, heading to a validation of its particular use on the treatment of several pathologies in which it is traditionally used, as well as infer on the possibility of studying it as promising therapeutic tool.

**Keywords:** Drugs, ethnopharmacology, *Lavandula* L., plants, “rosmaninho”, traditional medicine.

## **Índice**

<b>Índice de Figuras .....</b>	<b>vii</b>
<b>Lista de Abreviaturas.....</b>	<b>viii</b>
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Metodologia .....</b>	<b>2</b>
<b>3. Objetivos .....</b>	<b>3</b>
<b>4. As plantas como fonte de matéria médica.....</b>	<b>4</b>
4.1. Marcos históricos .....	4
4.2. Fármacos derivados de plantas: casos de sucesso.....	6
4.3. As plantas na descoberta de novos fármacos .....	16
4.4. Legislação atual em Portugal .....	19
<b>5. A etnofarmacologia .....</b>	<b>21</b>
<b>6. Género <i>Lavandula</i> L.....</b>	<b>24</b>
6.1. Atividades de espécies do género <i>Lavandula</i> L.....	24
<b>7. Género <i>Lavandula</i> L. em Portugal.....</b>	<b>26</b>
7.1. Taxonomia .....	26
7.2. Botânica .....	26
7.2.1. <i>Lavandula latifolia</i> Medik.....	26
7.2.2. <i>Lavandula multifida</i> L.....	27
7.2.3. <i>Lavandula pedunculata</i> (Mill.) Cav. ....	28
7.2.4. <i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>luisieri</i> (Rozeira) Rozeira .....	29
7.2.5. <i>Lavandula viridis</i> L Hér.....	30
<b>8. Rosmaninho .....</b>	<b>31</b>
8.1. Usos e tradições .....	31
8.2. Estudos científicos de espécies portuguesas .....	33
8.3. Rosmaninho: novos horizontes .....	50
<b>9. Perspetivas futuras e o papel do farmacêutico .....</b>	<b>52</b>
<b>10. Conclusão .....</b>	<b>54</b>
<b>11. Bibliografia .....</b>	<b>56</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 7.1</b> <i>Lavandula multifida</i> L. ....	27
<b>Figura 7.2</b> <i>Lavandula pedunculata</i> (Mill.) Cav. ....	28
<b>Figura 7.3</b> <i>Lavandula stoechas</i> subsp. <i>luisieri</i> (Rozeira) Rozeira ....	29
<b>Figura 7.4</b> <i>Lavandula viridis</i> L'Hér. ....	30

## Lista de Abreviaturas

<b>BHT</b>	<i>Butylated hydroxytoluene</i>
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentração necessária para provocar a morte a 50% da população em estudo
<b>CMB</b>	Concentração mínima bactericida
<b>CMI</b>	Concentração mínima inibitória
<b>CML</b>	Concentração mínima letal
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dose necessária para provocar a morte a 50% da população em estudo
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picrilidrazilo
<b>EMA</b>	<i>European Medicines Agency</i>
<b>FDA</b>	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>GC</b>	<i>Gas chromatography</i>
<b>GC/MS</b>	<i>Gas chromatography / mass spectrometry</i>
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>ORAC</b>	<i>Oxygen radical absorbance capacity</i>
<b>TBARS</b>	<i>Thiobarbituric acid reactive substances</i>
<b>TEAC</b>	<i>Trolox equivalent antioxidant capacity</i>
<b>TLC</b>	<i>Thin-layer chromatography</i>

## 1. Introdução

Desde os tempos ancestrais que as plantas desempenham um papel essencial na vida do Homem. Existem evidências que, já no período do Paleolítico, as civilizações recorriam às plantas como fonte de alimento, como matéria-prima para construção de abrigos e, entre muitas outras utilizações, como fonte de medicamentos (1). O conhecimento empírico acerca das plantas usadas pelo Homem, adquirido ao longo de milhares de anos de experiência, foi-se difundindo de tal modo que, até ao início do século XIX, as plantas eram a principal fonte de matéria médica (2).

A evolução técnico-científica que se seguiu caracterizou-se, inicialmente, pelo isolamento de constituintes dotados de atividade farmacológica a partir de matéria-prima de origem natural e, posteriormente, pela síntese e hemissíntese de novas moléculas usando estes constituintes como modelo. De facto, diversos fármacos mundialmente utilizados provêm diretamente das plantas, como por exemplo, a quinina, o taxol, a efedrina e a digoxina. Esta evolução, apesar de motivada pelo desenvolvimento da indústria farmacêutica e caracterizada pelo domínio dos fármacos sintéticos, possibilitou a coexistência até ao presente de fármacos de origem vegetal. Na verdade, atualmente, cerca de 85% da população mundial depende das plantas para os cuidados de saúde primários (3,4). Uma vez que a humanidade continua a depender das plantas como fonte de novos fármacos, é essencial incitar o desenvolvimento da etnofarmacologia, que se define como a exploração científica interdisciplinar dos agentes ativos, tradicionalmente utilizados ou observados pelo Homem, cujo objetivo engloba a validação do uso concreto de plantas no tratamento de diferentes patologias (5).

Nas últimas duas décadas, o número de plantas da Península Ibérica estudadas do ponto de vista etnofarmacológico tem aumentado. Em Portugal, são disso exemplo os estudos realizados sobre o género *Lavandula* L., que integra três espécies conhecidas localmente como “rosmaninho” - *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav., *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira e *Lavandula viridis* L'Hér.. Estas espécies são abundantes em território português, de forma espontânea e cultivada, e utilizadas na medicina tradicional sob a forma de infusões, para uso interno ou externo, para o tratamento de diferentes patologias, tais como combate a constipações, tosse, digestões difíceis, urticária e cefaleias. Por esta razão, vários estudos se têm desenvolvido, nomeadamente em Portugal, na tentativa de encontrar dados científicos relativos à validação do uso concreto do rosmaninho no tratamento das principais patologias para que é tradicionalmente utilizado (6–8).

## 2. Metodologia

Para a realização desta dissertação foi efetuada uma pesquisa em várias fontes bibliográficas, com o objetivo de selecionar a informação de acordo com a sua atualidade e/ou relevância para o tema a tratar.

Para a pesquisa bibliográfica foram utilizadas as seguintes bases de dados: Web of Knowledge, B-On e Google Scholar. Para além disso, foi ainda consultada uma revista de referência para a área de estudo desta dissertação – *Journal of Ethnopharmacology*.

Inicialmente, os termos utilizados na pesquisa foram: “*medicinal plants*”, “*tradicional medicine*”, “*ethnopharmacology*”, “*Lavandula*” e “rosmaninho”. Numa fase posterior da pesquisa, associou-se alguns dos termos nos motores de busca das bases de dados supracitadas, de forma a restringir a informação ao tema em estudo, nomeadamente: “*medicinal plants*” AND “Portugal”, “*ethnopharmacology*” AND “Portugal”, “*Lavandula*” AND “Portugal”. Esta pesquisa possibilitou o acesso a diversos artigos científicos, originais e de revisão, bem como livros, sendo considerados os documentos redigidos em português e inglês. Uma vez que esta dissertação engloba uma componente histórica acerca do tema, foram consideradas publicações desde 1961 até 2017. Dos livros consultados importa salientar a importância de duas obras, “*Drug Discovery: A History*” de Sneader e “*Nova Flora de Portugal (Continente e Açores)*” de Franco.

Toda a informação científica selecionada para constar nesta dissertação encontra-se devidamente referenciada ao longo de todo o trabalho, recorrendo-se ao gestor bibliográfico Mendeley para a gestão e organização das referências bibliográficas.

### **3. Objetivos**

A presente dissertação tem como principal objetivo dar a conhecer de forma sistematizada os principais usos, tradições e estudos científicos já realizados visando as três espécies de rosmaninho da flora portuguesa. Para além disso, pretende-se inferir da existência de dados científicos relativos à validação do uso concreto de cada uma destas plantas no tratamento das principais patologias para que são tradicionalmente utilizadas, bem como inferir acerca da necessidade ou não de realização de mais estudos que permitam uma maior segurança da sua utilização.

De forma a alcançar os objetivos supracitados, foi necessário, inicialmente, proceder a uma revisão bibliográfica acerca da importância e do contributo das plantas no processo de desenvolvimento de novos fármacos, bem como a recolha de informação relevante acerca de uma área científica de elevado interesse para este trabalho – a etnofarmacologia.

## **4. As plantas como fonte de matéria médica**

### **4.1. Marcos históricos**

Desde os primórdios da humanidade que o Homem recorre à natureza para satisfazer muitas das suas necessidades básicas, nomeadamente para a produção de remédios. Na tentativa de encontrar cura para as doenças de que padeciam, os povos primitivos começaram por procurar na natureza, plantas que pudessem ser utilizadas como medicamentos. No entanto, uma vez que nesse tempo se desconhecia tanto a origem da doença como qual seria a planta mais indicada para a sua cura, a utilização de plantas na medicina popular era feita tendo por base a experiência e conhecimento empírico adquiridos ao longo de milhares de anos, sendo as descobertas de maior relevância transmitidas verbalmente às gerações seguintes (9,10).

Considera-se como a mais antiga evidência escrita do uso de plantas medicinais as inscrições em caracteres cuneiformes gravadas em várias placas de barro. Estas inscrições, provenientes da Mesopotâmia e datadas de 2600 a.C., descrevem o modo de preparação de alguns medicamentos, referindo mais de 250 plantas diferentes. Atualmente, algumas das operações farmacêuticas referidas por essas civilizações continuam a ser empregadas, conduzindo à obtenção de diversas formas farmacêuticas, tais como pomadas, unguentos e emplastos (9–11).

O famoso papiro de Ebers, decifrado em 1873 pelo egiptólogo alemão Georg Ebers, foi escrito por volta de 1550 a.C. e representa o primeiro tratado médico egípcio conhecido. Neste papiro, de 20 metros de comprimento, encontra-se descrito o método de diagnóstico aplicado, formas empíricas de tratamento, bem como indicações sobre a constituição dos medicamentos (9,11).

No que concerne ao mundo ocidental, o desenvolvimento da medicina e do uso de plantas medicinais deve-se, em grande parte, ao povo grego, destacando-se figuras como Hipócrates, Teofrasto, Galeno e Dioscórides. Hipócrates (459 – 370 a.C.), considerado o “Pai da Medicina”, publicou obras que incluem 300 plantas medicinais classificadas por ação fisiológica. Teofrasto (371 – 287 a.C.) é considerado o “Pai da Botânica”, uma vez que desenvolveu trabalhos notáveis na área da classificação e descrição botânica das plantas medicinais, bem como na elucidação dos seus efeitos tóxicos e propriedades curativas. Algumas das formas farmacêuticas precursoras das que ainda hoje são usadas devem-se a

Galeno (130 – 200 a.C.) que, nas suas obras, descrevia formulações complexas para a preparação de fármacos. Por sua vez, Dioscórides é considerado o “Pai da Farmacognosia”, pois durante as viagens que fazia ao acompanhar os exércitos romanos, recolheu bastante informação sobre as plantas medicinais das regiões por onde passava. Por volta de 77 d.C., escreveu o tratado “*De Materia Medica*”, onde descreve numerosos fármacos de origem vegetal, muitos dos quais ainda hoje utilizados (9–11).

Durante os séculos XVII e XVIII, o conhecimento acerca de medicamentos derivados de plantas era cada vez maior, no entanto, a procura por princípios ativos revelava-se um autêntico fracasso. Na verdade, o primeiro composto isolado foi a morfina, pelo cientista alemão Friedrich Sertürner, que em 1817 isolou este composto de *Papaver somniferum* L., tornando-se o primeiro princípio ativo a ser isolado e purificado a partir de uma fonte vegetal (12). Foi, então, no século XIX que se iniciou o isolamento de princípios ativos a partir de plantas, o que fez deste século um ponto de viragem no conhecimento e aplicação de plantas medicinais com validação científica e não apenas como consequência do conhecimento empírico (10).

Desde a antiguidade que o desenvolvimento da farmácia esteve relacionado com a farmacognosia. Esta foi considerada, pela primeira vez, uma disciplina farmacêutica pelo professor austríaco Johann Schmidt que, em 1815, definiu-a como a ciência que visa estudar tudo o que diz respeito a fármacos derivados de plantas ou animais. Durante o século XIX, a farmacognosia era, efetivamente, a disciplina farmacêutica mais importante, sendo considerada a “mãe” de todas as disciplinas farmacêuticas atuais (9,12).

Em 1896, surge um novo marco na história do estudo das plantas medicinais, quando o botânico Harsheberger usa pela primeira vez o termo “etnobotânica”, definindo-a como o estudo das “*plantas usadas pelos povos primitivos e indígenas*”. Posteriormente, este termo é amplificado, debruçando-se, não só no interesse pela relação existente entre o Homem e as plantas, mas também no modo de utilização dos recursos vegetais pelas sociedades primitivas e a sua influência nos costumes e crenças desses povos (9).

No caso particular de Portugal, a época dos Descobrimentos permitiu aos portugueses adquirir conhecimento junto de povos indígenas da África e Índia, países cuja flora é bastante diversificada e a medicina tradicional estava fortemente enraizada. Ainda no século XVI, o contributo dos Jesuítas foi bastante importante, uma vez que divulgaram os medicamentos utilizados pelos indígenas do Brasil (11).

Portanto, desde sempre que o Homem tenta obter fármacos a partir da natureza, de forma a curar as diversas doenças que iam acompanhando a humanidade. Com a constante

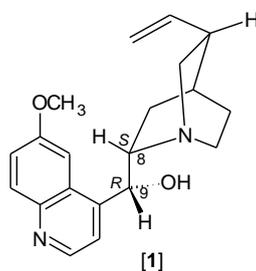
evolução das civilizações, várias plantas medicinais foram identificadas e estudadas. Os conhecimentos adquiridos eram transmitidos de geração em geração e de sociedade em sociedade, sendo aperfeiçoados ao longo dos tempos. O conhecimento associado à medicina tradicional, e que tem resistido aos progressos civilizacionais, tem promovido a investigação de plantas medicinais como potenciais fármacos, permitindo o isolamento de muitos princípios ativos que se tornaram fármacos de grande sucesso (10,13).

## 4.2. Fármacos derivados de plantas: casos de sucesso

Vários foram os fármacos descobertos a partir do estudo do uso tradicional das plantas para o tratamento de diversas patologias. Dos inúmeros casos de sucesso no âmbito da descoberta de novos fármacos, importa salientar a descoberta da quinina, morfina, salicina, vincristina e vimblastina, etoposido e teniposido, uma vez que continuam a ser mundialmente utilizados.

### Quinina

A quinina [1] é um alcaloide derivado da casca de árvore da espécie *Cinchona* nativa da América do Sul. O primeiro relato do uso da casca da *Cinchona* spp. remonta ao século XVII, quando os jesuítas, em missão no Peru, observaram o modo como os índios recorriam a infusões da casca de uma árvore, a que chamavam árvore da Quina ou árvore da febre, para tratar tremores e febres (9). Os jesuítas difundiram esta descoberta pela Europa, pelo que a casca da *Cinchona* spp. começou rapidamente a ser utilizada para tratar a malária, que na época era identificada como uma febre intermitente (14,15).



A primeira tentativa de isolamento do princípio ativo da casca da *Cinchona* spp. deve-se ao cirurgião português Bernardino Gomez que, preocupado com a variabilidade de resposta dos seus doentes ao tratamento com a casca da *Cinchona* spp., iniciou o seu trabalho de investigação. Em 1811, o cirurgião conseguiu obter cristais prateados a partir da casca da

árvore, aos quais chamou cinchonina, pensando ser o único princípio ativo existente. No entanto, em 1820, os farmacêuticos franceses Pelletier e Caventou repetiram as experiências de Gomez e, ao alterarem algumas partes do procedimento, conseguiram não só isolar a cinchonina como também a quinina (15). A quinina foi considerado o primeiro tratamento eficaz contra a malária que permaneceu até à década de 40, sendo ainda utilizada em muitos países em desenvolvimento (12).

A elevada toxicidade da quinina impulsionou a procura por novos antimaláricos mais seguros. Foram, então, sintetizadas a cloroquina e a mefloquina tendo como protótipo a quinina, substituindo-a até ao século XX (16). No entanto, o surgimento de estirpes resistentes levou à reintrodução da quinina no tratamento da malária causada por estirpes resistentes de *Plasmodium falciparum* (15).

O aparecimento de estirpes resistentes aos antimaláricos conhecidos, incentivou a procura de novos composto sintéticos ou derivados de produtos naturais, no entanto, a malária continua a assolar a humanidade (9). De acordo com o último relatório da Organização Mundial de Saúde (OMS) divulgado em 2016, estima-se que no ano de 2015 ocorreram, aproximadamente, 212 milhões de casos de malária em todo o mundo, tendo 90% dos casos ocorrido em África. A OMS estimou ainda que, em 2015, a malária foi responsável por 429 mil mortes (17). Atualmente, a quinina continua a desempenhar um papel importante na terapêutica antimalárica, pois continua a ser administrada caso as estirpes causadoras da doença sejam estirpes resistentes de *Plasmodium falciparum* ou estirpes resistentes à cloroquina ou mefloquina (18).

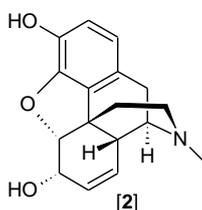
## **Morfina**

Teofrasto foi o primeiro a descrever a papoila *Papaver somniferum* L. na sua obra “*Historia Plantarum*”. A partir da *P. somniferum* é possível extrair o ópio por um processo de secagem do látex que exsuda da cápsula da papoila. Através da sua utilização empírica, o ópio passou a demonstrar claramente as suas propriedades analgésicas, sendo considerado, até ao século XIX, o fármaco mais eficaz (15).

Em 1805, Friedrich Wilhelm Sertürner (1783 – 1841), um assistente de farmácia na Alemanha, através das suas experiências conseguiu extrair um ácido orgânico a partir do ópio, que nunca antes havia sido descrito na literatura, o qual denominou ácido mecónico (15). Ao administrá-lo a cães verificou que o composto por ele descoberto não apresentava atividade. Posteriormente, descobriu que ao alcalinizar a solução-mãe originava um precipitado a partir

do qual conseguia obter um cristal insolúvel em água. Este composto, por sua vez, já se mostrava ativo quando administrado a cães. Sertürner estava, portanto, perante o princípio ativo do ópio, ao qual denominou “*morphium*”. Em 1811, Sertürner confirmou que o princípio ativo do ópio não era um ácido mas sim uma base, ou alcaloide, uma vez que formava um sal ao reagir com um ácido. Até então todas as suas publicações não tinham sido reconhecidas (15,19).

Apesar da extração da morfina [2] a partir do ópio ser considerada umas das mais importantes descobertas na medicina do século XIX, só teve o seu merecido reconhecimento em 1817, quando Sertürner publica mais um dos seus artigos, mas desta vez num jornal conceituado da época, não sendo ignorado como anteriormente (15,19).



O físico e químico francês Joseph Louis Gay-Lussac sugeriu, pela primeira vez em química orgânica, uma uniformização da nomenclatura, propondo que a nomeação dos alcaloides vegetais passasse a terminar no sufixo “-ina” (do inglês: “-ine”). Assim, Gay-Lussac alterou a denominação “*morphium*” de Sertürner para morfina (15). As experiências de Sertürner impulsionaram, nas décadas seguintes, a extração de inúmeros compostos ativos a partir de fontes vegetais, sobretudo alcaloides, como por exemplo, a cafeína, nicotina, atropina, cocaína, entre outros (20).

Apesar da morfina ter sido descoberta em 1805, só se universalizou o seu uso, aproximadamente, cinquenta anos mais tarde, em 1853, com o aparecimento da seringa e agulha hipodérmica para administração subcutânea. A partir desse momento, conseguiu-se aumentar gradualmente a qualidade e eficácia no alívio da dor (15,19).

A morfina foi o primeiro princípio ativo a ser isolado e purificado a partir de uma fonte vegetal e, também, o primeiro fármaco derivado de um produto natural a ser comercializado (12,21). A Merck foi a primeira companhia farmacêutica a ser fundada, sendo a pioneira na extração de morfina e de outros alcaloides em 1826. A Merck foi, portanto, a primeira companhia farmacêutica a comercializar morfina (20).

Apesar de todos os seus efeitos secundários, tais como a dependência, depressão respiratória, náuseas e obstipação, a morfina continua a ser o fármaco disponível mais eficaz no alívio da dor severa (15).

Sem o grande contributo de Sertürner no isolamento da morfina a partir do ópio, a estrutura complexa da morfina nunca teria sido encontrada por programas de desenho racional de fármacos e, sem a sua descoberta, nunca se teria desenvolvido terapêuticas análogas eficientes para o alívio da dor, tendo como inspiração a estrutura química única da morfina (22).

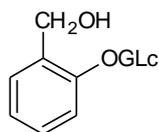
### **Salicina**

O primeiro relato histórico das propriedades do salgueiro (*Salix* spp.) remonta à Mesopotâmia, ou seja, há cerca de 6000 anos, quando estas civilizações recorriam às plantas como fonte de alimento e de medicamentos. Foram encontradas placas de argila escritas por Assírios do período sumério (3500 – 2000 a.C.) cujas inscrições descreviam o uso de folhas de salgueiro para o tratamento da dor e inflamação. Existem, igualmente, evidências de que o povo babilónico (605 – 562 a.C.) usava extratos da planta do salgueiro para tratar febre comum, dor e inflamação. Todo este conhecimento empírico levou a que também os egípcios (1300 a.C.) recorressem às folhas do salgueiro para curar doenças inflamatórias e incluíssem a descrição desta planta no papiro de Ebers, onde é referido o seu efeito analgésico de “*tirar o calor das feridas inflamadas*” (23).

O povo grego, que em muito contribuiu para o desenvolvimento da medicina, rendeu-se igualmente ao uso do salgueiro. Hipócrates, aos doentes que padeciam de temperaturas altas e dor, recomendava mastigar casca de salgueiro. Dioscórides, aproximadamente 50 anos mais tarde, continuava a indicar o uso da casca do salgueiro para aliviar os sintomas de inflamação, devido às suas propriedades analgésicas e anti-inflamatórias. Celsius, por sua vez, usava folhas de salgueiro fervidas e vinagre para tratar mulheres com prolapso uterino e Galeno recorria às folhas de salgueiro para tratar feridas e úlceras (23).

No início do século XIX iniciou-se a pesquisa pelo princípio ativo do extrato do salgueiro. Uma das primeiras grandes descobertas foi da autoria de Johann Andreas Buchner que, em 1828, obteve a substância terapeuticamente ativa do salgueiro à qual removeu os taninos e, posteriormente, purificou, obtendo uma substância amarelada a que chamou salicina [3]. Um ano depois, o farmacêutico francês Henri Leroux obteve a forma cristalina pura da salicina. Nos anos que se seguiram foi elucidada a estrutura química da salicina, bem como a sua conversão em ácido salicílico. Kolb & Lautemann conseguiram desenvolver um processo de síntese química de ácido salicílico em pequena escala e, mais tarde, em larga

escala para ser usado como analgésico e antipirético (23). O ácido salicílico foi, portanto, o primeiro composto derivado de produto natural a ser produzido por síntese química (20).



[3]

Em 1870, Marcellus von Nencki, de Basileia, demonstrou que a salicina é convertida em ácido salicílico no interior do organismo humano. Tal descoberta fez com que o uso da salicina fosse, gradualmente, dando lugar ao ácido salicílico, uma vez que era mais dispendiosa do que o ácido salicílico sintético (15).

O médico escocês Thomas Maclagan ambicionava conhecer a eficácia terapêutica do pó do salgueiro (salicina). Para tal, em 1876, iniciou uma investigação clínica na qual começou por administrar salicina a si próprio e, posteriormente, a doentes com reumatismo agudo, obtendo uma completa redução da febre e da inflamação articular. Apesar das evidentes propriedades antipiréticas e anti-inflamatórias da salicina, só em 1950 foi reconhecida universalmente a importância de uma terapêutica com salicilatos no tratamento da artrite reumatoide (15,23).

Com o passar do tempo observou-se em muitos doentes que o ácido salicílico era irritante para o estômago e, quando em doses elevadas, provocava hemorragias. Estes efeitos adversos eram associados ao caráter ácido do composto, tendo motivado a descoberta do ácido acetilsalicílico. Na verdade, verificou-se que uma reação de acetilação mascara o grupo fenol do ácido salicílico, resolvendo o problema do caráter ácido da molécula. Assim, o ácido acetilsalicílico funciona como pró-fármaco do ácido salicílico, podendo ser administrado oralmente sem provocar náuseas e sofrendo apenas a reação de desacetilação no intestino e na corrente sanguínea, onde se converte em ácido salicílico (22,23).

A produção do ácido acetilsalicílico é atribuída a Felix Hoffmann, tendo sintetizado o composto a 10 de agosto de 1897. No entanto, existe alguma controvérsia quanto à autoria da descoberta da acetilação do ácido salicílico. Arthur Eichengrün, um colega de Hoffmann, alegou num artigo por ele publicado em 1949, que havia sido ele a instruir Hoffmann a sintetizar o ácido acetilsalicílico. Esta declaração surge apenas 50 anos mais tarde, pois devido à sua ascendência judaica, Eichengrün não conseguia refutar uma publicação de Hoffmann antes do término da era Nazi. O ácido acetilsalicílico foi testado, demonstrando-se não só um substituto eficaz do ácido salicílico, mas também as suas propriedades analgésicas (15,23,24).

A 6 de março de 1899, o ácido acetilsalicílico começou a ser comercializado pela Bayer Company sob a marca Aspirina® (do inglês: *Aspirin*), nome atribuído por Eichengrün, em que o “a” vem de acetil e “spirin” de *Spirea ulmaria*, nome arcaico da planta a partir da qual se extraiu a salicina, que atualmente se denomina *Spirea altaica* Pall.. Em 1900 a Bayer lançou a aspirina solúvel em forma de comprimidos que, rapidamente, se tornou disponível em clínicas e hospitais, sendo mundialmente reconhecida devido à sua ação eficaz e segura no alívio da dor. Em 1915 torna-se disponível ao público em geral sem necessidade de prescrição médica (15,23).

O verdadeiro mecanismo de ação da aspirina só foi elucidado em 1971 por John Vane, que conseguiu demonstrar que a aspirina bloqueava a síntese de prostaglandinas. A partir desta descoberta foi possível desvendar a ação antiagregante plaquetar da aspirina, que resulta do bloqueio da síntese de prostaglandinas (15).

A história da descoberta da aspirina evidencia o importantíssimo papel da etnobotânica e do desenvolvimento de fármacos a partir de compostos naturais. Tal contributo permitiu, não só descobrir a aspirina, o fármaco mais utilizado em toda a história, como também desvendar o mecanismo da inflamação e, conseqüentemente, desenvolver e testar fármacos anti-inflamatórios, como os anti-inflamatórios não esteroides muito utilizados atualmente, tais como o ibuprofeno e o naproxeno (22,24).

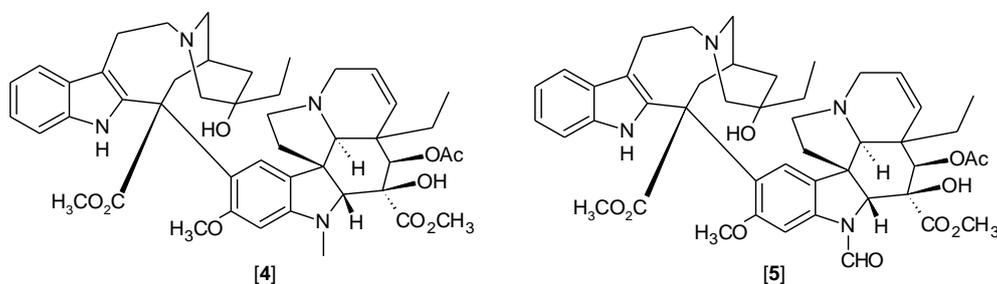
### **Vincristina e vimblastina**

Os primeiros relatos das propriedades medicinais da vinca (*Vinca* spp.) datam do ano 50 a.C. (25). A vinca de Madagáscar, nome comum pelo qual também ficou conhecida, é originária de regiões tropicais e possui a designação botânica de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, sendo antigamente designada por *Vinca rosea* (15,26). A medicina tradicional recorria a diversas partes desta planta para tratar muitas enfermidades, tais como diabetes, febre, malária, hipertensão, doenças cardíacas, leishmaniose, entre outras. No entanto, sabe-se que, na medicina popular, era especialmente empregada no tratamento da diabetes, sendo utilizada durante séculos na Europa no combate a esta doença (9,25).

Em 1949, na Universidade de Western Ontario no Canadá, Robert Noble e a sua equipa de investigadores tentavam comprovar, experimentalmente, o poder hipoglicemiante de *C. roseus* reportado pelo conhecimento tradicional. Para tal, administraram extratos feitos a partir das folhas da planta a ratos e coelhos diabéticos, não tendo obtido, em nenhum dos

casos, uma redução dos níveis de glucose no sangue (15,26). No entanto, puderam constatar que os ratos submetidos a esta experiência acabavam por se tornar bastante suscetíveis a infeções, o que lhes despertou um novo interesse. Por esta razão, Nobel e a sua equipa decidiram analisar o sangue destes ratos, no qual verificaram que a quantidade de glóbulos brancos estava drasticamente reduzida (9,15). As investigações nesta área continuaram até que, em 1958, Robert Noble e o Dr. Charles Beer conseguiram isolar, na sua forma cristalina pura, um alcaloide até então desconhecido. Uma vez que, este alcaloide ao ser administrado a ratos provocava uma rápida descida do número de glóbulos brancos e uma forte depressão da medula óssea, foi-lhe atribuída a denominação vincalokoblastina e, mais tarde, vimblastina (26). Já a vincristina, outro alcaloide proveniente da *C. roseus*, só foi isolada em 1961 por Svoboda (15).

A vimblastina [4] e a vincristina [5] são usadas no tratamento do cancro, uma vez que conseguem inibir a divisão celular. Estes alcaloides são capazes de se ligar à tubulina dos microtúbulos que formam o fuso mitótico e, conseqüentemente, parar o ciclo celular em metáfase, podendo levar à morte da célula (27,28). Para além de participarem no processo de divisão celular, os microtúbulos estão envolvidos em muitas outras funções celulares, atuando, por isso, quer sobre as células normais quer sobre as células cancerígenas, o que explica os diversos efeitos adversos provocados por estes alcaloides (28,29).



A vimblastina isolada da *C. roseus* foi patenteada pela primeira vez pela Eli Lilly Co. em 1961, surgindo posteriormente mais de 2600 patentes atribuídas a invenções relacionadas com o uso desta planta (25).

No que respeita à estrutura de ambas as moléculas, vimblastina e vincristina, estas são bastante semelhantes, apresentando apenas uma única diferença. Enquanto que a vincristina tem um grupo aldeído ligado ao azoto de um dos anéis indólicos, a vimblastina tem um grupo metilo na mesma posição (15). A partir de simples modificações na estrutura destas moléculas naturais desenvolveram-se vários compostos semissintéticos, nomeadamente, a vindesina e vinorelbina, que apresentam aplicações clínicas (29,30). A partir de 2008 ficou disponível um novo alcaloide da vinca sintético, a vinflunina, que se encontra, atualmente, aprovado na

Europa (28). Os alcaloides da vinca, quer os naturais quer os semissintéticos, apesar das suas semelhanças estruturais, possuem diferenças ao nível da toxicidade e espectro de atividade, apresentando, por isso, diferentes aplicações clínicas (15,29).

Segundo a lista dos medicamentos para tratamento do cancro proposta em 2014 pela OMS (do inglês: *Proposed list of cancer medicines*), a vimblastina está indicada no tratamento do linfoma de Hodgkin e sarcoma de Kaposi, enquanto que a vincristina está indicada no tratamento de diversas doenças oncológicas, tais como leucemia linfocítica aguda e crónica, retinoblastoma, linfoma de Burkitt, entre outras. Nessa mesma lista, a OMS refere ainda que a vinorelbina está indicada no tratamento do cancro da mama metastizado e carcinoma pulmonar de não pequenas células (31). Regra geral, os alcaloides da vinca são utilizados em regimes combinados de quimioterapia (28).

O isolamento da vimblastina e vincristina a partir das folhas da *C. roseus* é considerado uma das mais importantes descobertas de fármacos obtidos de árvores superiores e cuja eficácia e utilidade estão, efetivamente, comprovadas. No entanto, a baixa concentração destes compostos na planta (1 g de vimblastina e 20 mg de vincristina em 1000 Kg de material vegetal) torna a sua extração bastante dispendiosa. Por essa razão, têm-se reunido esforços no sentido de pesquisar uma forma de aumentar a produção dos alcaloides da vinca e, ao mesmo tempo, reduzir os custos. Contudo, apesar de todas as investigações feitas em torno da *C. roseus*, uma das plantas medicinais mais estudadas do mundo, ainda não foi encontrada uma alternativa ao cultivo em campo que fosse economicamente viável. Ou seja, a *C. roseus* continua a ser a única fonte de vimblastina e vincristina (25).

Apesar dos alcaloides da vinca, vimblastina e vincristina, terem sido os primeiros compostos isolados de plantas a ser utilizados como agentes anticancerígenos, continuam a desempenhar um papel indispensável na farmacoterapia moderna (20,30). São, de uma forma geral, a segunda classe de fármacos anticancerígenos mais utilizada, prevendo-se, no futuro, uma maior incidência de estudos sobre os alcaloides da vinca e as suas aplicações terapêuticas (32).

### **Etoposido e teniposido**

*Podophyllum peltatum* L. é uma planta pertencente à família Berberidaceae originária da América do Norte, que possui diversas denominações comuns, tais como maçã de maio, mandrágora americana, maçã indiana e limão selvagem (15,33). Esta planta foi descrita pela

primeira vez por Catersby em 1731 e, posteriormente, por Linnaeus, responsável pela atribuição da sua atual nomenclatura (34).

Povos nativos de diferentes regiões da América do Norte recorriam à *P. peltatum* para diversas finalidades medicinais. Existem relatos de que extratos aquosos da raiz da planta eram utilizados como laxante e anti-helmíntico. Para além disso, os indígenas norte-americanos usavam *P. peltatum* no tratamento de picadas de cobra, em condições de surdez e, ainda, como agente suicida (veneno) (33,34). Desde 1818 que esta planta é utilizada para remoção de verrugas genitais e perianais através da aplicação tópica da raiz reduzida a pó sobre as verrugas. Esta propriedade antiviral e abrasiva no tratamento de verrugas continua a ser a principal aplicação da *P. peltatum* (15,29).

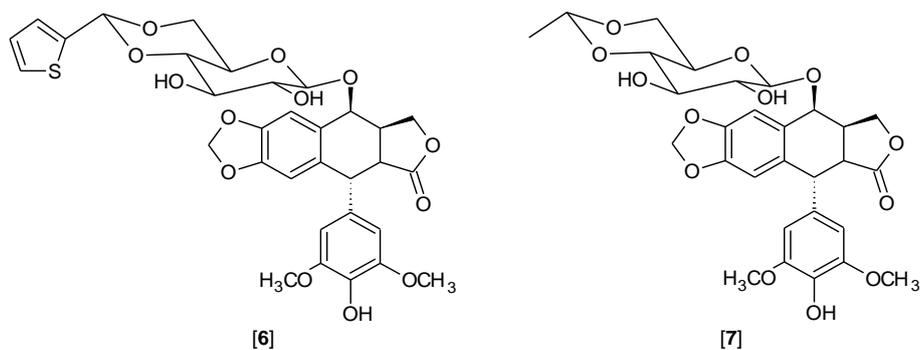
*P. peltatum* foi incluída na primeira farmacopeia americana, em 1820, com finalidade laxante, emética e colagoga, sendo retirada em 1942. Em 1864 é introduzida na farmacopeia britânica, permanecendo, ainda, na edição alterada de 1995. Quanto à sua utilização na Europa, as referências datam de 1861 (33,34).

A podofilina é uma resina extraída da *P. peltatum* que começou a ser comercializada em 1850, sendo incluída em diversas farmacopeias e rapidamente reconhecida como um dos laxantes mais populares do mundo (15,34).

Por detrás da descoberta da podofilotoxina, o principal constituinte da podofilina, estão vários estudos e investigação decorridos ao longo de mais de um século (30,34). A podofilotoxina foi isolada a partir do rizoma de *P. peltatum* por Podwysotski, em 1880. No entanto, a sua estrutura só foi estabelecida em 1951 por Anthony Schrecker e Jonathan Hartwell (15). Após vários ensaios clínicos feitos em ratos, a podofilotoxina demonstrou efeitos adversos graves, pelo que, apesar de ser capaz de inibir a divisão celular ao ligar-se à tubulina, era demasiado tóxica para ser utilizada como agente anticancerígeno (15,30,35).

Porém, nem tudo estava perdido, apesar da podofilotoxina não ter passado nos ensaios clínicos, deu o impulso necessário para que mais investigação fosse feita para contornar este problema, ficando esta tarefa a cargo do departamento de investigação farmacêutica da Sandoz (36). Ao longo de 20 anos de investigação, a Sandoz sintetizou e testou cerca de 600 compostos derivados da podofilotoxina (34,36). Só em 1965, por mero acaso, os investigadores da Sandoz conseguiram, finalmente, sintetizar e identificar o teniposido e, mais tarde, o etoposido. Em 1978, a Sandoz decide licenciar essas duas moléculas na companhia farmacêutica Bristol-Myers Squibb, uma vez que esta detinha bastante experiência na área da quimioterapia no tratamento do cancro, sendo a responsável pelo lançamento no mercado destes dois fármacos (15,33,36).

Em 1967, o teniposido [6] começou a ser testado clinicamente, sendo comercializado em alguns países europeus em 1976, após ter demonstrado eficácia no tratamento do reticulossarcoma, doença de Hodgkin e carcinoma da bexiga. Por sua vez, o etoposido [7] só entrou em ensaios clínicos em 1971, no entanto, apresentou-se como o primeiro fármaco eficaz contra leucemia linfocítica aguda, demonstrando igualmente eficácia no tratamento do carcinoma pulmonar de não pequenas células, cancro testicular e linfoma (15).



A partir da segunda metade da década de 80, o etoposido desempenhou um papel bastante importante na melhoria do tratamento do cancro, tornando-se um fármaco bastante difundido devido ao aumento das prescrições, quer isoladamente quer em combinação com outros tratamentos (34). Atualmente, segundo a lista dos medicamentos para tratamento do cancro proposta em 2014 pela OMS, o etoposido está indicado no tratamento de diversas doenças oncológicas, tais como leucemia linfocítica aguda, carcinoma pulmonar de não pequenas células, tumor de células germinativas testiculares, linfoma de Hodgkin, entre outras, enquanto que relativamente ao teniposido não há qualquer referência (31).

Ao contrário da podofilotoxina que se liga à tubulina, atuando ao nível dos microtúbulos, os seus derivados, teniposido e etoposido, atuam por inibição da topoisomerase II, a enzima responsável pelo desenrolamento da dupla cadeia do ácido desoxirribonucleico (DNA) necessário durante a replicação celular (36,37). Assim, os derivados da podofilotoxina ao ligarem-se ao complexo DNA-topoisomerase II, provocam a quebra das cadeias de DNA, inibindo a divisão celular (29).

Apesar da vasta aplicabilidade dos derivados da podofilotoxina como anticancerígenos e da sua elevada eficácia, estes continuam a apresentar alguns problemas, tais como mielossupressão, desenvolvimento de resistência farmacológica e atuação sobre células normais. Na tentativa de tentar ultrapassar tais limitações, vários análogos da podofilotoxina têm sido sintetizados com o objetivo de encontrar anticancerígenos menos tóxicos, mais potentes e mais seletivos (29).

Em suma, a descoberta do etoposido, teniposido e de todos os análogos da podofilotoxina é mais uma prova de que fármacos de elevada relevância clínica podem ser encontrados através do estudo do uso tradicional das plantas no tratamento de diversas patologias (36). Efetivamente, na área oncológica, os agentes anticancerígenos descobertos a partir de produtos naturais, como as plantas, são de extrema importância no que concerne ao tratamento do cancro, pois podem não funcionar diretamente como fármacos anticancerígenos, no entanto podem servir de modelo de síntese (do inglês: *lead compound*) para que sejam sintetizados análogos sintéticos ou semissintéticos. Para além disso, podem ainda proporcionar aos investigadores uma melhor compreensão dos mecanismos que desencadeiam a doença, promovendo a descoberta de novos fármacos com mecanismos de ação diferentes e com maior eficácia (37).

### **4.3. As plantas na descoberta de novos fármacos**

Desde os primórdios da humanidade que as plantas têm demonstrado o seu enorme valor enquanto fonte de agentes terapêuticos, uma vez que podem ser usadas para diversas finalidades, nomeadamente, utilização da planta inteira ou partes desta; isolamento de compostos bioativos que podem ser usados diretamente como fármacos; servir de modelo na produção de compostos semissintéticos com maior atividade e/ou menor toxicidade e, ainda, como potenciais ferramentas farmacológicas (20,38).

Pode constatar-se que, apesar de todos os avanços nas áreas da química combinatória e da triagem de alta produtividade (do inglês: *high throughput screening*), o contributo dos produtos naturais na descoberta de novos fármacos continua a ser elevado. Na verdade, apenas 36% das 1073 novas entidades químicas pertencentes ao grupo das pequenas moléculas aprovadas entre 1981 e 2010 eram puramente sintéticas, sendo mais de metade derivadas de produtos naturais ou tendo estes por base (20). Para além disso, de todas as novas entidades moleculares aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA), mais de um terço são produtos naturais e seus derivados, sendo um quarto destes derivados de plantas (39).

A partir da década de 80 iniciou-se o declínio no número de novas entidades químicas descobertas, coincidindo com o período em que a indústria farmacêutica desviou o seu foco de interesse dos produtos naturais para a química combinatória e triagem de alta produtividade. Consequentemente, um menor número de medicamentos era lançado no

mercado, o que despertou de novo o interesse da indústria farmacêutica pela descoberta de fármacos derivados de produtos naturais ou baseados nestes (16,20).

Os produtos naturais apresentam diversas vantagens relativamente às moléculas obtidas por síntese combinatória, nomeadamente, a sua estereoquímica complexa com diversos grupos funcionais possibilita uma interação com elevada seletividade e especificidade com os seus alvos biológicos; a sua complexidade e diversidade química não poderão ser descobertas através de simples síntese química e, aqueles que possuem informações etnofarmacológicas bem documentadas, apresentam uma grande vantagem na medida em que poderão ser uma forte indicação da existência de compostos terapêuticos eficazes no Homem (16,20,27). Para além disso, os compostos derivados de produtos naturais podem ser um complemento à síntese química, uma vez que podem servir de modelo de síntese, devido à sua singular estrutura complexa, ou seja, fornecem a estrutura inicial seguindo-se uma otimização dessa estrutura através da aplicação de química combinatória (16). Porém, existem igualmente inconvenientes no recurso a produtos naturais, nomeadamente a plantas, para a descoberta de novos fármacos, devido a vários fatores: a) um planeamento prévio da colheita da planta tendo em consideração alguns aspetos, como o local onde esta predomina, as variações na composição química da planta consoante as estações do ano e se a espécie se encontra ameaçada ou em vias de extinção; b) uma identificação e nomenclatura corretas e, preferencialmente, feitas por um especialista, devido às alterações constantes na taxonomia e aos problemas de sinonímia; c) uma verificação da quantidade de material disponível para que seja suficiente para o amplo número de testes que são necessários executar para a caracterização da atividade farmacológica dos seus constituintes; d) as variações na composição química da planta de acordo com a composição do solo, clima, condições de armazenamento e processo de extração; e) a difícil manutenção da integridade dos extratos vegetais obtidos; f) controvérsias e dificuldades em patentear compostos derivados de produtos naturais sem qualquer modificação química, o que desincentiva a indústria farmacêutica a financiar os dispendiosos ensaios clínicos exigidos para a aprovação dos produtos naturais; g) o esgotamento dos recursos naturais devido ao drástico crescimento da população humana e às colheitas massivas e insustentáveis de plantas com propriedades medicinais (20,38,40). Numa tentativa de contornar alguns destes problemas, a OMS e a *European Medicines Agency* (EMA) desenvolveram linhas orientadoras de boas práticas agrícolas e de colheita de plantas medicinais (20).

No âmbito da descoberta de fármacos a partir de plantas medicinais, foi feito um levantamento de compostos puros derivados de plantas utilizados como fármacos em países

que hospedam os Centros de Medicina Tradicional da OMS, constatando-se que 80% destes compostos apresentavam indicações terapêuticas iguais ou relacionadas às referidas pela medicina tradicional (16,20). Segundo a definição da OMS, medicina tradicional é “*a soma total do conhecimento, habilidade e práticas baseadas em teorias, crenças e experiências indígenas de diferentes culturas, explicáveis ou não, usadas na manutenção da saúde, bem como na prevenção, diagnóstico, melhoria ou tratamento de doença física e mental*”. Recentemente, a OMS publicou um plano estratégico, intitulado Estratégia da Medicina Tradicional da OMS 2014-2023 (do inglês: *WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023*), com o intuito de apoiar os Estados membro de forma a que estes consigam usufruir da potencial contribuição da medicina tradicional e complementar na saúde e bem-estar, bem como promover a eficácia e segurança do uso da medicina tradicional e complementar através de regulamentação específica. Segundo a OMS, estas metas serão alcançadas através da implementação de três objetivos estratégicos, nomeadamente, através da elaboração de políticas nacionais e criação de uma base de conhecimentos; regulamentação visando a melhoria da segurança, qualidade e eficácia da medicina tradicional e complementar e, por último, integração da medicina tradicional e complementar e dos auto-cuidados de saúde no sistema nacional de saúde (41).

Efetivamente, os problemas de segurança e eficácia associados aos medicamentos à base de plantas prendem-se com a falta de regulamentação específica num mercado em crescente expansão, sendo evidente a falta de controlo efetivo da eficácia e segurança deste tipo de medicamentos. Portanto, torna-se evidente a importância da implementação de métodos e técnicas padrão no desenvolvimento e fabrico de medicamentos à base de plantas, bem como regulamentação que assegure a qualidade dos mesmos, uma vez que a qualidade dos medicamentos à base de plantas está diretamente relacionado com a sua eficácia e segurança. Por isso, para além do esforço acrescido na tentativa de harmonização dos diferentes países quanto às especificações das farmacopeias, padronização e classificação dos medicamentos à base de plantas, a OMS desenvolveu uma série de *guidelines* de forma a assegurar a qualidade e segurança das plantas medicinais e substâncias derivadas de plantas (42). No entanto, apesar de todas estas iniciativas, cada país tem a sua forma de fabrico, distribuição, comercialização e definição de medicamentos à base de plantas, não havendo um consenso para a aplicação de uma abordagem única padronizada para todos os países (42,43).

Por último, importa salientar a relevância da taxonomia e identificação do local de amostragem de produtos naturais, nomeadamente plantas, uma vez que estes aspetos têm sido negligenciados. De facto, quando se está perante um novo composto natural é igualmente

importante descrever com precisão, não só a sua estrutura química e atividade biológica, como também a taxonomia e localização da amostragem da fonte do composto. No entanto, a classificação taxonómica é um processo moroso e nem sempre consensual, uma vez que se encontra em constante revisão e atualização, requerendo conhecimentos especializados e infraestruturas específicas. Pelo contrário, a localização geográfica das amostragens é cada vez mais fácil, pois a maioria das ferramentas eletrónicas já vem equipada com *Global Positioning System* (GPS), sendo facilitada a localização geográfica da amostragem através do registo das coordenadas fornecidas pelo GPS. Em suma, o fornecimento de informações precisas relativas à taxonomia, localização da amostragem, estrutura química e atividade biológica poderão ser uma ferramenta de auxílio consistente para futuras pesquisas de novos compostos naturais (44).

#### **4.4. Legislação atual em Portugal**

Em Portugal, a legislação atual é explícita quanto à diferenciação dos medicamentos derivados de plantas, discriminando os diferentes conceitos no Decreto-Lei 176/2006 de 30 de agosto (45).

Segundo o artigo 3º inserido na secção I do capítulo I do referido Decreto-Lei, um medicamento à base de plantas é “*qualquer medicamento que tenha exclusivamente como substâncias activas uma ou mais substâncias derivadas de plantas, uma ou mais preparações à base de plantas ou uma ou mais substâncias derivadas de plantas em associação com uma ou mais preparações à base de plantas*”, enquanto que preparações à base de plantas consistem em “*preparações obtidas submetendo as substâncias derivadas de plantas a tratamentos como a extracção, a destilação, a expressão, o fraccionamento, a purificação, a concentração ou a fermentação, tais como as substâncias derivadas de plantas pulverizadas ou em pó, as tinturas, os extractos, os óleos essenciais, os sucos espremidos e os exsudados transformados*”. Diferencia-se, ainda, no artigo supramencionado a definição de substâncias derivadas de plantas como “*quaisquer plantas inteiras, fragmentadas ou cortadas, partes de plantas, algas, fungos e líquenes não transformados, secos ou frescos e alguns exsudados não sujeitos a tratamento específico, definidas através da parte da planta utilizada e da taxonomia botânica, incluindo a espécie, a variedade, se existir, e o autor*” (45).

Por sua vez, os medicamentos tradicionais à base de plantas, possuem uma regulamentação mais rígida, sendo-lhes reservado uma secção individualizada no Decreto-Lei

176/2006, de 30 de agosto, a secção VI do capítulo VIII. Assim, de acordo com o artigo 141º da referida secção, só podem ser considerados medicamentos tradicionais à base de plantas aqueles que, cumulativamente:

*“a) Tenham indicações exclusivamente adequadas a medicamentos à base de plantas e, dadas a sua composição e finalidade, se destinem e sejam concebidos para serem utilizados sem vigilância de um médico para fins de diagnóstico, prescrição ou monitorização do tratamento;*

*b) Se destinem a ser administrados exclusivamente de acordo com uma dosagem e posologia especificadas;*

*c) Possam ser administrados por uma ou mais das seguintes vias: oral, externa ou inalatória;*

*d) Já sejam objecto de longa utilização terapêutica, de acordo com os dados ou pareceres referidos na alínea m) do n.º 2 do artigo seguinte;*

*e) Sejam comprovadamente não nocivos quando utilizados nas condições especificadas, de acordo com a informação existente e reputada suficiente;*

*f) Possam demonstrar, de acordo com informação existente e reputada suficiente, efeitos farmacológicos ou de eficácia plausível, tendo em conta a utilização e a experiência de longa data.” (45).*

Na secção supracitada, para além de ser esclarecido o que se entende por medicamento tradicional à base de plantas encontra-se, ainda, definido o procedimento de obtenção de registo de utilização tradicional (artigo 142º), bem como o seu indeferimento (artigo 143º); os pedidos de registo em vários Estados membros (artigo 144º); a que condições devem obedecer a rotulagem, folheto informativo e publicidade (artigo 145º) e como se deve proceder para alteração de um registo de utilização tradicional (artigo 146º) (45).

Importa ainda esclarecer a definição de medicamento equivalente que, de acordo com o disposto no artigo 3º, secção I, capítulo I do Decreto-Lei 176/2006 de 30 de agosto, é um *“medicamento tradicional à base de plantas que se caracteriza por possuir as mesmas substâncias activas, independentemente dos excipientes utilizados, uma finalidade pretendida idêntica, uma dosagem e posologia equivalentes e uma via de administração idêntica à do medicamento tradicional à base de plantas a que o pedido se refere” (45).*

## **5. A etnofarmacologia**

Estima-se que, aproximadamente, 85% da população mundial dependa das plantas para os seus cuidados de saúde primários, tendo este facto impulsionado o desenvolvimento de uma área científica – a etnofarmacologia - cujo objetivo engloba a validação do uso concreto de plantas no tratamento de diferentes patologias e se define como a exploração científica interdisciplinar dos agentes ativos, tradicionalmente utilizados ou observados pelo Homem (4,5). Importa salientar a importância da natureza interdisciplinar da etnofarmacologia, uma vez que uma investigação etnofarmacológica depende, não só do contributo de disciplinas como a química, biologia e farmacologia, mas também de ciências sociais e culturais, como por exemplo, a antropologia (46).

Os investigadores dos estudos etnofarmacológicos que vão para o terreno recorrem aos residentes locais, focando-se principalmente nos curandeiros tradicionais dessa região, para que deles consigam extrair o máximo de informação possível (4). Esta recolha e documentação do conhecimento tradicional não tem como único objetivo a possível descoberta de novos fármacos, mas também a preservação do conhecimento tradicional de forma escrita, que se tende a perder no tempo com o envelhecimento da população indígena e o avanço civilizacional (6). Durante estas pesquisas de campo é essencial que se recolham todos os dados clínicos, isto é, toda a informação relativa à progressão do estado do doente quando sujeito a determinadas condições, uma vez que todos estes dados servirão de índices de efetividade ou toxicidade das preparações estudadas e poderão, igualmente, aumentar a probabilidade de obtenção, no final de todo o processo, de um composto seguro, pois já foi experimentado em humanos (47). Posteriormente, as amostras do material vegetal recolhido durante a expedição são enviadas para laboratórios universitários, onde são analisadas com o objetivo de tentar encontrar os seus principais constituintes e, mais tarde, possíveis mecanismos de ação farmacológica. Desde meados da década de 90 que a maioria das investigações laboratoriais etnofarmacológicas é feita nas instituições universitárias devido à diminuição do interesse da indústria pelo desenvolvimento de medicamentos derivados de produtos naturais e por ser o local de concentração dos cientistas especializados em práticas laboratoriais (4).

A floresta tropical é o local de eleição para investigações etnofarmacológicas devido à vasta biodiversidade dos seus ecossistemas e à diversidade química das plantas que se encontram neste tipo de habitats. As plantas das florestas tropicais são alvo de diversas

ameaças, nomeadamente ataque de predadores e infeções fúngicas e virais, pelo que são forçadas a arranjar estratégias de defesa. Algumas destas estratégias resultam na produção de compostos químicos que tendem a ser moléculas bioativas mais potentes e, portanto, fortes candidatos para os programas de investigação de novos fármacos a partir de compostos naturais (4).

Os estudos etnofarmacológicos não se focalizam somente no estudo de uma planta ou conjunto de plantas, mas sim na investigação do conhecimento tradicional como um todo, ou seja, investiga igualmente o contexto cultural em que a planta é utilizada. Para os povos indígenas, a eficácia do tratamento depende das práticas e crenças que lhes estão associadas, uma vez que serão estas que fornecerão o “significado” medicinal à planta e, para além disso, estes povos acreditam que a saúde não é a simples ausência de doença, mas sim um estado de equilíbrio e bem-estar. Portanto, é essencial uma investigação completa do conhecimento tradicional, sendo necessário o estudo aprofundado de todos os rituais e crenças associados à aplicação de tal planta em determinado contexto clínico (46). No entanto, há que ter em consideração que, regra geral, a mesma planta tem significado e aplicações variadas dentro da mesma cultura e entre culturas diferentes, tendo a etnofarmacologia um papel essencial nesta matéria, pois avalia as aplicações das plantas medicinais que são culturalmente mais aceites, através da aplicação de conceitos e ferramentas de antropologia (48).

Apesar da indústria farmacêutica estar devidamente equipada com a mais recente tecnologia, não está a ser tão inovadora e original como se esperava que fosse, principalmente devido à falta de compostos que sirvam de modelo de síntese e aos complexos, morosos e dispendiosos processos do desenvolvimento de novos fármacos. Recai, portanto, sobre a etnofarmacologia a esperança de encontrar novos modelos de síntese para que se possa novamente lançar para o mercado fármacos realmente inovadores, uma vez que os ensaios laboratoriais etno-guiados facilitam o *screening* e identificação dos compostos bioativos que poderão apresentar atividade farmacológica. Assim, a etnofarmacologia permitirá, por um lado, uma redução do tempo de pesquisa comparativamente com um *screening* aleatório de amostras, o que reduzirá igualmente os custos da investigação e, por outro lado, poderá encontrar a solução para diversos problemas, nomeadamente, a criação de resistência a fármacos por parte dos microrganismos; os efeitos adversos causados pelos fármacos atuais e, ainda, as doenças emergentes que ainda não têm um tratamento disponível (49,50).

O interesse crescente pela etnofarmacologia e pela medicina tradicional apresenta, para além das diversas vantagens, alguns problemas, tais como a biopirataria. Segundo o Grupo de Ação sobre a Erosão, Tecnologia e Concentração (do inglês: *Action Group on Erosion,*

*Technology and Concentration*), biopirataria define-se como a “*apropriação do conhecimento e dos recursos genéticos de comunidades de agricultores e de indígenas por indivíduos ou instituições que procuram o controlo exclusivo do monopólio (patentes e propriedade intelectual) sobre esses recursos e conhecimento*”, no entanto não existe ainda uma definição única para a biopirataria (51,52). Vários têm sido os esforços exercidos por parte da comunidade internacional para o reconhecimento, proteção e promoção do conhecimento tradicional, no entanto, ainda não existem soluções universalmente aceitáveis (51).

Atualmente, umas das grandes preocupações da etnofarmacologia é a documentação e partilha do conhecimento indígena e dos estudos científicos realizados às plantas medicinais desses povos. Antigamente, a partilha deste conhecimento era feita exclusivamente através de jornais, manuais e livros, no entanto, atualmente, a criação de bases de dados informatizadas veio revolucionar o método de disseminação da informação. As bases de dados informatizadas possibilitam uma melhor gestão da vasta quantidade de informação proveniente da combinação de diversas ciências, como a química, biologia e farmacologia; facilita o processo de pesquisa, análise e interpretação numa pesquisa etnofarmacológica; reúne informação gerada em diversas áreas do conhecimento tornando-a acessível aos investigadores e, por último, as bases de dados disponíveis via internet facilitam a disseminação e intercâmbio da informação entre os estudos etnofarmacológicos e o público em geral. Importa ainda salientar que, o complexo conhecimento etnofarmacológico exige o desenvolvimento e manutenção de um padrão comum para as bases de dados das plantas medicinais (53).

Em suma, apesar de toda a investigação decorrida na área da etnofarmacologia e das diversas vantagens que daí advêm, ainda existem muitas comunidades e povos indígenas por estudar, muitas plantas medicinais por explorar e, apesar das milhares de espécies vegetais encontradas, apenas uma fração já foi analisada laboratorialmente (9,53). Pode concluir-se, ainda, que a medicina tradicional só terá o devido reconhecimento nos sistemas de saúde quando se obtiverem dados experimentais e clínicos baseados na evidência, sendo necessário uma elevada padronização dos ensaios laboratoriais e clínicos para que a segurança e eficácia deste tipo de terapêutica fique comprovada (54).

## **6. Género *Lavandula* L.**

O género *Lavandula* L. pertence à família Lamiaceae cujas plantas, segundo Franco, 1984, se apresentam como subarbustos aromáticos que podem medir entre 20 e 170 cm de altura consoante a espécie. São detentoras de verticilastros em espigas que podem ser frouxas ou densas, com folhas lineares e oblongas e brácteas bem distintas das folhas. Possuem, igualmente, estames didinâmicos e mericarpos glabros e lisos. Por último, caracterizam-se, também, pela presença de um cálice (8-)13(-15)-nérveo, cujo dentículo superior apresenta, normalmente, um apêndice apical, e por uma corola bilabiada com coloração entre o pálido-purpúrea e o azul-violácea, cujo lábio superior é bilobado e o inferior é trilobado (7,55).

### **6.1. Atividades de espécies do género *Lavandula* L.**

O género *Lavandula* L. compreende cerca de 39 espécies, sendo algumas destas utilizadas durante séculos, não só devido ao seu interesse para a perfumaria, indústria alimentar e cosmética, mas também devido à sua atividade biológica e, conseqüente, ação terapêutica (56).

O estudo da atividade biológica das espécies de *Lavandula* L. tem-se focado, principalmente, na avaliação dos seus óleos essenciais e, apesar de todas as indicações terapêuticas popularmente referidas, grande parte destas ainda não apresentou atividade biológica fundamentada em evidências científicas ou clínicas (57).

Os óleos essenciais de *Lavandula* L. têm sido, portanto, utilizados tradicionalmente com diversas finalidades. Existem descrições relacionadas com uma potencial atividade antiespasmódica no músculo liso intestinal e uterino, antifúngica e antibacteriana que, por vezes, demonstrou eficácia mesmo contra estirpes resistentes aos fármacos convencionais. Relativamente à dermatologia, existem registos históricos da utilização destes óleos essenciais na cicatrização de feridas, sobretudo durante a Primeira Guerra Mundial. Para além disso, os óleos eram utilizados no alívio de sintomas associados a psoríase, dermatite e eczema, no entanto, importa salientar que, como qualquer óleo essencial, quando aplicado topicamente poderá provocar reações alérgicas ou irritações cutâneas. Mais recentemente, a aromaterapia tem recorrido aos óleos extraídos das espécies de *Lavandula* L. devido à sua ação sobre o sistema nervoso central, resultante da inalação dos seus compostos voláteis. Existem, ainda, relatos de que a inalação destes compostos voláteis poderá proporcionar um efeito ansiolítico.

Por último, existem, igualmente, relatos da utilização destes óleos ou das folhas e flores reduzidas a pó como biopesticida comercial ou de uso doméstico, uma vez que se demonstraram eficazes contra ácaros, carunchos-do-trigo, pulgões e traças (8,57).

## 7. Género *Lavandula* L. em Portugal

### 7.1. Taxonomia

O género *Lavandula* L. apresenta uma taxonomia complexa, com designações científicas diversas, o que dificulta, por vezes, a análise da informação científica existente acerca destas plantas (7).

Segundo a obra “*Nova Flora de Portugal (Continente e Açores)*” de Franco ocorrem, espontaneamente, em Portugal, cinco espécies de *Lavandula* L., nomeadamente, *Lavandula latifolia* Medik.<sup>1</sup>, *Lavandula multifida* L., *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav., *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira<sup>2</sup> e *Lavandula viridis* L’Hér. (8,55). Existem, igualmente, espécies cultivadas, designadamente, a *Lavandula dentata* L., pelo seu valor ornamental, e *Lavandula angustifolia* Mill. e algumas espécies híbridas devido ao seu interesse industrial (7,55).

Franco, 1984, considerou, ainda, a existência de três subespécies de *L. pedunculata* (Mill.) Cav.: subsp. *pedunculata*, subsp. *sampaiana* (Rozeira) Franco e subsp. *lusitanica* (Chaytor) Franco (55).

### 7.2. Botânica

Segue-se, uma breve descrição botânica das espécies de *Lavandula* L. espontâneas em Portugal.

#### 7.2.1. *Lavandula latifolia* Medik.

Segundo Franco, 1984, *Lavandula latifolia* Medik. apresenta-se como um caméfito lenhoso e tomentoso de 30 a 80 cm de altura. A sua espiga é cilíndrica e, normalmente, interrompida na base, com folhas inferiores oblongo-lanceoladas a lanceoladas e folhas superiores lineares ou linear-oblongas a revolutas. Possui, igualmente, brácteas florais

---

<sup>1</sup> A referência consultada refere *Lavandula latifolia* Medicus, no entanto o autor do presente trabalho designou *Lavandula latifolia* Medik. (designação atualmente aceite).

<sup>2</sup> A referência consultada refere *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez, no entanto o autor do presente trabalho designou *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira (designação atualmente aceite).

tomentosas, lineares a linear-lanceoladas e de coloração verde-acinzentada. Por último, o seu cálice é 13-nérveo, estriado-costado e mede entre 4 a 6 mm, apresentando o dente superior provido de um ápice, e a sua corola é violáceo-esbranquiçada e mede entre 8 a 10 mm (55).

### **7.2.2. *Lavandula multifida* L.**

*Lavandula multifida* L. (Figura 7.1) é, por sua vez, de acordo com Franco, 1984, um caméfito lenhoso, que pode atingir entre 50 a 100 cm de altura, apresentando-se acinzentado-tomentoso e com caules novos cobertos por longos pêlos vilosos e brancos. Possui espiga extensamente pedunculada e contém folhas verdes, com segmentos lineares e, maioritariamente, bipenatissectas, sendo as folhas distais dos ramos férteis pecioladas. As suas brácteas férteis medem entre 4 a 5 mm e são ovado-mucronadas e 3-nérveas. Esta espécie dispõe, ainda, de um cálice 15-nérveo com 4,5 a 5,5 mm, apresentando o dente superior inapendiculado, e uma corola que mede entre 10 a 12 mm e possui coloração azul-violácea (55).



**Figura 7.1** *Lavandula multifida* L.. Adaptado de (58).

### **7.2.3. *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav.**

De acordo com Franco, 1984, *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav. (Figura 7.2) é um caméfito lenhoso e tomentoso, que pode atingir até 170 cm de altura. Esta espécie apresenta espigas ovoides ou subcilíndricas com pedúnculos que podem medir entre 5 a 24 cm. Para além disso, dispõe de folhas inteiras acinzentado-tomentosas ou verde-acinzentado-tomentosas com margens revolutas, sendo lineares a oblongo-oblancooladas as folhas distais dos ramos férteis e menores e mais estreitas as que se encontram nos ramos estéreis. Por um lado, as brácteas férteis são menores, mais ou menos obtriangulares e apresentam nervuras pouco proeminentes e longitudinais, por outro lado as brácteas estéreis, oblongas a oblanceoladas, são maiores e possuem coloração violácea a pálido-lilacínea e, raramente, branca. Dispõem, ainda, de um cálice 13-nérveo com 4 a 7 mm, cujo dente superior é provido de um apêndice apical obreniforme, e uma corola púrpura-anegrada que mede entre 6 a 8 mm (55).



**Figura 7.2** *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav.. Adaptado de (59).

#### **7.2.4. *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira**

Segundo Franco, 1984, *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira (Figura 7.3) apresenta-se como um caméfito lenhoso e tomentoso de 20 a 60 cm de altura. Possui espiga cilíndrica e, raramente, ovoide, com folhas inteiras e acinzentado-tomentosas, sendo as folhas distais dos ramos férteis oblongas a lanceoladas, planas ou de margens mais ou menos revolutas, enquanto que as folhas dos ramos estéreis menores são mais estreitas e de margens bem revolutas. Relativamente às brácteas, as férteis são cordado-reniformes, cuspidadas, reticuladas, tomentosas e com nervuras proeminentes, e as distais estéreis são oblanceoladas e apresentam, geralmente, coloração púrpura ou lilacínea e, raramente, branca. Por último, esta espécie caracteriza-se, também, pela presença de um cálice de 3 a 5 mm, tomentoso e com dentes viloso-ciliados, cujo dente superior é provido de um apêndice apical obreniforme, e de uma corola púrpura-anegrada que pode medir entre 6 e 8 mm (55).



**Figura 7.3** *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira.  
Adaptado de (60).

### **7.2.5. *Lavandula viridis* L'Hér.**

De acordo com Franco, 1984, *Lavandula viridis* L'Hér. (Figura 7.4) é um caméfito lenhoso e viloso-pubescente, que pode medir entre 20 a 40 cm de altura. A sua espiga é ovoide-cilíndrica com folhas inteiras, verdes e viloso-pubescentes, sendo as folhas distais dos ramos férteis oblongas a lineares e com margens levemente revolutas, e as dos ramos estéreis menores mais estreitas e com margens bem revolutas. Enquanto que as suas brácteas férteis se apresentam ovado-orbiculares, verde-amareladas e com nervuras proeminentes e reticuladas, as brácteas distais estéreis são oblanceoladas e, igualmente, com coloração entre o esverdeado e o amarelado. Por último, dispõe, ainda, de cálice 13-nérveo, cujo dente superior é provido de um apêndice apical obreniforme, e de corola branca que pode medir entre 6 a 8 mm (55).



**Figura 7.4** *Lavandula viridis* L'Hér.. Adaptado de (61).

## **8. Rosmaninho**

As espécies de *Lavandula* L., espontâneas em Portugal, conhecidas popularmente como rosmaninho são: *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav., *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira e *Lavandula viridis* L'Hér.. Estas espécies ocorrem em Portugal Continental e Ilhas em quantidade e distribuição geográfica diversas, podendo adotar designações vulgares distintas consoante a região em que se encontram, como por exemplo, a espécie *L. viridis* pode ser conhecida por rosmaninho-verde nos Açores e a *L. stoechas* subsp. *luisieri* por rosmaninho-menor em Portugal Continental (7,8).

### **8.1. Usos e tradições**

As plantas do género *Lavandula* L. têm vindo a ser utilizadas na medicina tradicional durante séculos, sob a forma de infusões, decocções ou através da extração dos seus óleos essenciais. Para além da sua utilidade terapêutica, as espécies de *Lavandula* L. têm um elevado valor ornamental e aromático, apresentando diversas aplicações na perfumaria, indústria alimentar, cosmética e, mais recentemente, na aromaterapia (7,8,56).

As espécies do género *Lavandula* L. conhecidas por rosmaninho, para além das aplicações comuns deste género na indústria e como planta ornamental, apresentam diversas utilizações específicas. Estudos etnobotânicos realizados em Portugal têm demonstrado a versatilidade do rosmaninho no campo da medicina tradicional, mencionando o uso de infusões no combate a constipações, tosse, dispepsia, urticária, cefaleias, “problemas” de coração e dores menstruais. Para além disso, é referido o uso externo da água de decocção das flores do rosmaninho na prevenção da queda de cabelo, lavagem de feridas e preparação de unguentos para alívio de dores musculares e reumáticas. Existem, ainda, relatos da utilização do rosmaninho em defumadores juntamente com outras plantas devido à sua ação desinfetante (7).

Vários estudos etnofarmacológicos se têm debruçado sobre a aplicação específica de cada espécie de *Lavandula* L. na medicina popular, nomeadamente as espécies espontâneas em Portugal conhecidas por rosmaninho.

Segundo Rivera *et al.*, 1995, cujo estudo se baseou em jornais da região, enciclopédias e publicações científicas, *L. pedunculata* (Mill.) Cav.<sup>3</sup> era utilizada no arquipélago da Madeira em infusões para o tratamento de acidentes vasculares cerebrais e como analgésico. É ainda referido que as folhas de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. eram queimadas para que o fumo libertado fosse inalado e permitisse, igualmente, o tratamento de acidentes vasculares cerebrais (62). Já no estudo de Ferreira *et al.*, 2006, através da informação recolhida em Portugal junto da população idosa, foi possível descobrir que as flores e as partes aéreas floridas de *L. pedunculata* (Mill.) Cav.<sup>4</sup> eram usadas na preparação de infusões para o tratamento da ansiedade, insónia, tosse e bronquite (63). No estudo etnofarmacológico de Neves *et al.*, 2009, baseado em entrevistas realizadas nos concelhos de Montalegre e Chaves (Trás-os-Montes, Portugal), relatou-se, ainda, que as partes aéreas e as flores de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. eram utilizadas no tratamento da dispepsia, cefaleias, asma e bronquite (6).

Na obra “*Plantas Aromáticas e Medicinais*” de Tavares *et al.*, 2008, refere-se que as inflorescências de *L. stoechas* subsp. *luisieri*<sup>5</sup> eram popularmente usadas como estimulante, expetorante, espasmolítico e laxante (64). No estudo de Zuzarte *et al.*, 2012, para além das aplicações já referidas de *L. stoechas* subsp. *luisieri*<sup>6</sup>, também é mencionado a utilização popular desta planta no alívio de cefaleias e enxaquecas, bem como o seu potencial desinfetante (65).

Relativamente a *Lavandula viridis* L’Hér., de acordo com Rivera *et al.*, 1995, infusões desta planta eram utilizadas no arquipélago da Madeira para tratar gripe, “problemas” do sistema circulatório e aliviar cefaleias (62). Por último, existe, ainda, referência à utilização dos óleos essenciais de *L. viridis* L’Hér. na obra “*Planta medicinais: entre o passado e o presente*” de Cabral *et al.*, 2013. Segundo esta obra, os óleos são obtidos por arrastamento pelo vapor de água das partes aéreas floridas, tendo utilidade em aromaterapia devido às suas propriedades sedativas e analgésicas (66).

---

<sup>3</sup> A referência consultada refere *Lavandula pedunculata* Cav., no entanto o autor do presente trabalho designou *L. pedunculata* (Mill.) Cav. (designação atualmente aceite).

<sup>4</sup> A referência consultada refere *Lavandula pedunculata*, no entanto o autor do presente trabalho designou *L. pedunculata* (Mill.) Cav. (designação atualmente aceite).

<sup>5</sup> A referência consultada refere *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas Mart., no entanto o autor do presente trabalho designou *L. stoechas* subsp. *luisieri* (designação atualmente aceite).

<sup>6</sup> A referência consultada refere *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas Mart., no entanto o autor do presente trabalho designou *L. stoechas* subsp. *luisieri* (designação atualmente aceite).

## 8.2. Estudos científicos de espécies portuguesas

O interesse crescente no potencial das plantas aromáticas no campo da medicina, particularmente nos seus óleos essenciais, resultou num conjunto de estudos desenvolvidos ao longo dos últimos anos, tendo como foco as espécies portuguesas de *Lavandula* L. conhecidas por rosmaninho. Estes estudos incidiram, principalmente, na análise dos óleos essenciais extraídos do rosmaninho e na investigação da sua possível capacidade de inibição da acetilcolinesterase, atividade antioxidante, antifúngica, antibacteriana e anti-inflamatória. Uma menor quantidade de estudos incidiu sobre a análise dos extratos destas plantas.

### Estudo do potencial de inibição da acetilcolinesterase

A doença de Alzheimer é um distúrbio neurodegenerativo progressivo que se caracteriza pela presença de novos neurofibrilares e placas senis no cérebro dos doentes que apresentam a doença. As placas senis são constituídas, principalmente, por péptidos  $\beta$ -amilóides. Estes péptidos são responsáveis pela produção de espécies reativas de oxigénio e peroxidação lipídica na membrana das células neuronais, o que provoca processos inflamatórios e danos nos constituintes celulares. A única terapêutica eficaz para a doença de Alzheimer, disponível atualmente, baseia-se no aumento dos níveis de acetilcolina na fenda sináptica através da inibição da acetilcolinesterase, que é a enzima responsável pela catálise da hidrólise da acetilcolina após a sua libertação na sinapse. No entanto, alguns dos fármacos sintéticos utilizados atualmente apresentam hepatotoxicidade, o que impulsiona a busca por novas moléculas, sobretudo em produtos naturais, como alternativa aos compostos sintéticos e de forma a alcançar uma terapêutica mais segura (63,67).

No estudo de Ferreira *et al.*, 2006, amostras de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. foram colhidas na região do Fundão (Beira Interior, Portugal) e analisadas quanto à capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase através da adaptação do método descrito em Ellman *et al.*, 1961 (63,68).

A percentagem de inibição da acetilcolinesterase dos óleos essenciais foi de  $56,5 \pm 4,9\%$  para o óleo de concentração 0,5 mg/mL e  $48,3 \pm 3,1\%$  para o de concentração 1,0 mg/mL. Relativamente à percentagem de inibição da acetilcolinesterase dos extratos etanólicos, obteve-se, neste estudo, uma percentagem de  $16,7 \pm 8,6\%$  para o extrato de concentração 0,5 mg/mL e  $42,0 \pm 16,8\%$  para o de concentração 1,0 mg/mL. Por último, a

água de decocção apresentou apenas capacidade de inibição da acetilcolinesterase para a concentração de 5,0 mg/mL, cujo valor determinado foi de  $67,8 \pm 10,7\%$ . De uma forma geral, tanto o extrato etanólico, como o óleo essencial obtido de *L. pedunculata* (Mill.) Cav., apresentaram, em média, uma atividade inibitória moderada da acetilcolinesterase (63).

Em Costa *et al.*, 2013, as partes aéreas de *L. viridis* foram colhidas em São Bartolomeu de Messines (Algarve, Portugal). Os extratos obtidos a partir das partes aéreas da planta foram analisados quanto à capacidade de inibição da acetilcolinesterase tendo, igualmente, por base o método descrito em Ellman *et al.*, 1961 (67,68).

A percentagem de inibição da acetilcolinesterase obtida para os extratos aquoso, etanólico e hidro-etanólico foi de  $34,53 \pm 0,41\%$ ,  $52,81 \pm 1,22\%$  e  $47,09 \pm 2,91\%$ , respetivamente, para uma concentração final de 2,5 mg/mL. Para além disso, foi utilizado como inibidor padrão da acetilcolinesterase - a galantamina. Para uma concentração de 5 µg/mL, a percentagem de inibição foi de  $67,78 \pm 4,36\%$ . Pode, então, concluir-se que as atividades dos extratos determinadas são inferiores às da galantamina. De uma forma geral, os extratos obtidos a partir de *L. viridis* demonstraram uma atividade inibitória moderada (67).

Este estudo faz, ainda, uma breve referência ao contributo de constituintes como os terpenóides e compostos fenólicos, presentes nos extratos ou óleos essenciais deste tipo de plantas, na atividade inibitória da acetilcolinesterase (67).

Os trabalhos de Ferreira *et al.*, 2006, e Costa *et al.*, 2013, permitem constatar que, o potencial de inibição da acetilcolinesterase dos óleos essenciais, extrato etanólico e água de decocção de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. e os extratos aquoso, etanólico e hidro-etanólico de *L. viridis* estão na mesma ordem de grandeza e, para além disso, demonstram, de uma forma geral, que estas espécies de *Lavandula* L. apresentam uma capacidade moderada de inibição da acetilcolinesterase (63,67).

### **Estudo da atividade antioxidante**

No estudo de Ferreira *et al.*, 2006, e de Costa *et al.*, 2013, supramencionados, para além da avaliação da atividade inibitória da acetilcolinesterase de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. e *L. viridis*, foi também analisada a possível atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir destas plantas (63,67).

De acordo com o ensaio de Ferreira *et al.*, 2006, a atividade antioxidante do óleo essencial, do extrato etanólico e da água de decocção de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. foi quantificada através de ensaios 2,2-difenil-1-picrilidrazilo (DPPH) e ácido β-caroteno-

linoleico, em que no primeiro é medida a capacidade do extrato/óleo essencial em estabilizar o radical DPPH formado em solução, ou seja, a sua capacidade em neutralizar os radicais livres, e no segundo a atividade antioxidante é medida através da capacidade do extrato/óleo essencial em inibir a oxidação do ácido linoleico (63).

A percentagem de atividade antioxidante dos óleos essenciais extraídos de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. foi de 10% no ensaio DPPH e de 33% no ensaio do ácido  $\beta$ -caroteno-linoleico, para uma concentração de óleo essencial de 0,1 mg/mL. A quantificação da atividade antioxidante dos extratos etanólicos, de concentração 0,1 mg/mL, apenas foi determinada através do ensaio de DPPH, cuja percentagem de inibição foi de 70%. Relativamente à água de decocção, de concentração 0,1 mg/mL, a percentagem de atividade antioxidante foi de 93% no ensaio de DPPH e de 20% no ensaio do ácido  $\beta$ -caroteno-linoleico (63).

Pôde, então, constatar-se com base nestes resultados, que os extratos etanólicos e a água de decocção de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. demonstraram uma maior atividade antioxidante no ensaio de DPPH do que os óleos essenciais extraídos da mesma planta. Concluiu-se, ainda, que de todas as plantas analisadas neste estudo, *L. pedunculata* (Mill.) Cav. foi uma das que apresentou percentagens elevadas quer para a atividade antioxidante quer para a capacidade de inibir a atividade da acetilcolinesterase (63).

Segundo o estudo de Costa *et al.*, 2013, a atividade antioxidante dos extratos de *L. viridis* foi analisada através de ensaios da capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC), da capacidade de captação de radicais peroxilo pelo método ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*), da atividade de quelação do  $\text{Fe}^{2+}$  e da inibição da peroxidação lipídica induzida por  $\text{Fe}^{2+}$  (67).

Os valores obtidos no ensaio de TEAC para os extratos aquoso, etanólico e hidro-etanólico foram de  $670,95 \pm 4,24 \mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox/g extrato,  $332,06 \pm 2,52 \mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox/g extrato e  $1149,82 \pm 17,31 \mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox/g extrato, respetivamente. Já a determinação da capacidade de captação de radicais peroxilo dos extratos aquoso, etanólico e hidro-etanólico através do método ORAC obteve os seguintes valores, respetivamente,  $1501,22 \pm 39,95 \mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox/g extrato,  $1183,95 \pm 90,78 \mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox/g extrato e  $4030,26 \pm 102,40 \mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox/g extrato. Com base nos resultados obtidos nos ensaios de TEAC e ORAC pôde concluir-se que os extratos hidro-etanólicos foram os que demonstraram, em ambos os ensaios, um maior potencial antioxidante. Em relação à capacidade dos extratos em quelar o  $\text{Fe}^{2+}$ , exceto os extratos etanólicos, todos demonstraram uma atividade de quelação dose-dependente, ou seja, uma atividade crescente à medida que aumenta a concentração do

extrato. Os autores deste estudo inferiram, ainda, que a maior atividade de quelação dos extratos aquosos poderá estar relacionada com o seu maior conteúdo em compostos fenólicos contendo grupos catecol. Quanto à capacidade de inibição da peroxidação lipídica induzida por  $Fe^{2+}$  foram utilizadas duas referências: o hidroxitolueno butilado (BHT) com uma concentração de 0,30 mg/mL e percentagem de inibição de  $64,17 \pm 4,47\%$  e o Trolox com uma concentração de 0,20 mg/mL e percentagem de inibição de  $53,28 \pm 7,37\%$ . Os resultados obtidos para a determinação da capacidade de inibição da peroxidação lipídica demonstraram valores elevados para os extratos aquosos e hidro-etanólicos mas para concentrações mais altas de extratos (1,25 – 5,00 mg/mL) comparativamente às concentrações das referências (0,30 e 0,20 mg/mL). Perante estes ensaios, os extratos de *L. viridis* demonstraram a sua capacidade de neutralização de radicais livres, de quelação do  $Fe^{2+}$  e proteção contra a peroxidação lipídica induzida por  $Fe^{2+}$ , comprovando, assim, a atividade antioxidante dos extratos desta planta (67).

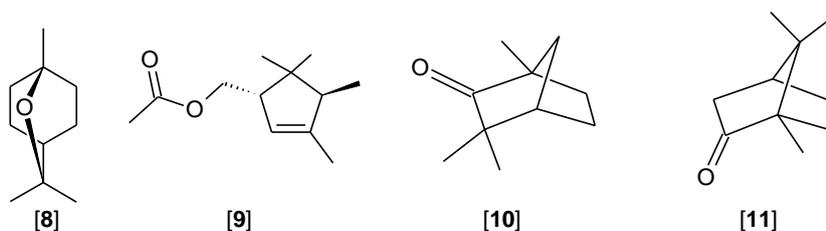
Tal como supracitado, a doença de Alzheimer encontra-se intimamente relacionada com processos inflamatórios, devido à produção de espécies reativas de oxigénio e à peroxidação lipídica que ocorre nas células neuronais. Logo, compostos com propriedades antioxidantes deverão ser considerados no tratamento desta doença, pois são capazes de inativar as espécies reativas de oxigénio e, conseqüentemente, atenuar o processo inflamatório (63).

Em suma, apesar de ser necessário mais investigação nesta área, é possível verificar o potencial dos constituintes presentes em *L. pedunculata* (Mill.) Cav. e *L. viridis* para a terapêutica da doença de Alzheimer, podendo constituir alternativa aos fármacos sintéticos clássicos, uma vez que poderão evitar a degeneração neuronal através da sua atividade antioxidante e, para além disso, poderão igualmente aumentar os níveis de acetilcolina na fenda sináptica, tal como os fármacos sintético atualmente utilizados nesta doença, devido à capacidade de inibição da acetilcolinesterase (63,67).

A toxicidade provocada pelo uso prolongado de antioxidantes sintéticos tem vindo a ser objeto de estudo e alvo de diversas discussões, o que levou a que alguns países restringissem a utilização de antioxidantes sintéticos, impulsionando, assim, a busca por antioxidantes naturais. As plantas aromáticas surgem, portanto, como um bom objeto de estudo, uma vez que possuem constituintes com propriedades antioxidantes (8).

No estudo de Matos *et al.*, 2009, foram isolados os óleos essenciais das partes aéreas de *L. stoechas* subsp. *luisieri*<sup>7</sup>, *L. pedunculata* subsp. *lusitanica* (Chaytor) Franco<sup>8</sup> (uma das subespécies de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. identificada por Franco na sua obra “*Nova Flora de Portugal (Continente e Açores)*”) e *L. viridis*, colhidas em diferentes regiões do Algarve (Portugal) e analisadas quanto à sua composição química e atividade antioxidante (8,55).

A composição química dos óleos essenciais foi avaliada através de cromatografia gasosa (GC) e cromatografia gasosa/espectrometria de massa (GC/MS), sendo possível concluir que os óleos essenciais de *L. stoechas* subsp. *luisieri* são ricos em 1,8-cineole (26–34%) [8] e acetato de *trans*- $\alpha$ -necrodilo (11–18%) [9]; os de *L. pedunculata* subsp. *lusitanica* são maioritariamente constituídos por fenchona (42–44%) [10] e cânfora (35–36%) [11] e os de *L. viridis* em 1,8-cineole (33%) [8] e cânfora (20%) [11]. Importa salientar que os derivados do necrodano, tal como o acetato de *trans*- $\alpha$ -necrodilo, são característicos do óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri*, não sendo identificados em nenhuma outra espécie de *Lavandula* L. (8).



Relativamente à análise da atividade antioxidante, foram realizados três ensaios, nomeadamente, ensaio de DPPH, ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e determinação do potencial redutor através da monitorização da transformação do ferro férrico em ferroso no comprimento de onda 700 nanómetros (8).

No ensaio de DPPH o inibidor de referência utilizado foi o BHT, apresentando uma capacidade de neutralização dos radicais livres significativamente superior à dos óleos essenciais em estudo, para todas as concentrações. Por sua vez, os óleos essenciais só se demonstraram ativos para concentrações superiores a 500 mg/mL. Os óleos essenciais extraídos de *L. pedunculata* subsp. *lusitanica* foram os que demonstraram uma capacidade de neutralização dos radicais mais baixa, entre 5 e 10%, tendo os óleos essenciais de *L. stoechas* subsp. *luisieri* apresentado, de uma forma geral, maior eficácia para concentrações mais elevadas. Em relação ao ensaio de TBARS, os óleos essenciais apresentaram atividade

<sup>7</sup> A referência consultada refere *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez, no entanto o autor do presente trabalho designou *L. stoechas* subsp. *luisieri* (designação atualmente aceite).

<sup>8</sup> A referência consultada refere *Lavandula stoechas* subsp. *lusitanica* (Chaytor) Rozeira, no entanto o autor do presente trabalho designou *L. pedunculata* subsp. *lusitanica* (Chaytor) Franco (designação atualmente aceite).

antioxidante mais baixa do que a do antioxidante sintético usado como referência, o BHT. Neste ensaio, o óleo extraído de *L. stoechas* subsp. *luisieri* demonstrou-se o mais eficaz na inibição da peroxidação lipídica quando comparado com os resultados obtidos para os outros óleos. Por último, a determinação do potencial redutor através da monitorização da transformação do ferro férrico em ferroso permitiu constatar que o poder redutor dos óleos essenciais aumentou com a concentração das amostras. A referência utilizada foi, igualmente, o BHT, demonstrando um poder de redução significativamente superior ao dos óleos. Neste ensaio, os óleos essenciais de *L. stoechas* subsp. *luisieri* e *L. viridis* demonstraram uma capacidade de redução significativamente superior à dos óleos essenciais de *L. pedunculata* subsp. *lusitanica* (8).

Perante estes ensaios, o óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* foi o que demonstrou uma maior atividade antioxidante comparativamente com os óleos essenciais de *L. pedunculata* subsp. *lusitanica* e *L. viridis*, uma vez que apresentou capacidade de neutralização de radicais livres, prevenção da peroxidação lipídica e, ainda, potencial de redução (8).

Assim, pode inferir-se que, este ensaio preliminar poderá servir de base para que mais estudos sejam realizados na tentativa de descobrir antioxidantes naturais alternativos aos sintéticos, possivelmente com um maior grau de segurança quando utilizados a longo prazo (8). No entanto, importa salientar que, alguns dos principais constituintes dos óleos essenciais, nomeadamente, os monoterpenos, incluindo aldeídos e cetonas, são compostos neurotóxicos, pelo que seria interessante realizar mais estudos para que se consiga contornar este possível obstáculo (69,70).

Os organismos vivos, no decorrer dos seus processos fisiológicos ou como resposta a situações de stress, produzem espécies reativas de oxigénio que, em situações normais, são neutralizadas por compostos com atividade antioxidante. Quando há um desequilíbrio entre o número de espécies reativas de oxigénio e as moléculas antioxidantes, ou seja, quando o número de espécies reativas de oxigénio supera a capacidade antioxidante das células, poderão desencadear-se várias doenças, tais como doenças neurodegenerativas, aterosclerose, tumores e doenças inflamatórias crónicas. As propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos, incluindo os flavonoides, têm suscitado um elevado interesse na comunidade científica, pois estes são capazes de eliminar radicais livres, quelar metais e ativar algumas enzimas antioxidantes. Assim, uma vez que, os compostos fenólicos são metabolitos secundários sintetizados pelas plantas, torna-se importante o recurso a plantas para a extração destes compostos e consequente análise, de forma a estudar a possível correlação entre a

utilização destes compostos e o combate a doenças provenientes do desequilíbrio entre as espécies oxidantes e os compostos antioxidantes (56).

Por esta razão, estudos como o de Batista *et al.*, 2015, são de extrema relevância. Neste estudo, as partes aéreas floridas de *L. stoechas* subsp. *luisieri* foram colhidas em regiões do Sudoeste de Portugal e de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. no Centro de Portugal. Os extratos destas duas espécies foram analisados quanto ao seu conteúdo total em compostos fenólicos e flavonoides e possível atividade antioxidante. A capacidade antioxidante dos óleos essenciais foi também avaliada. Relativamente à atividade antioxidante, esta foi quantificada através do ensaio de DPPH, da quantificação da inibição da oxidação do ácido linoleico exógeno por um produtor de radicais livres térmico, permitindo a determinação da inibição da peroxidação lipídica e, por último, através do ensaio da proteção do DNA (56).

Na análise do conteúdo em compostos fenólicos, os extratos mais polares de *L. stoechas* subsp. *luisieri* apresentaram uma maior quantidade de compostos fenólicos comparativamente com os de *L. pedunculata* (Mill.) Cav.. Quanto ao conteúdo em flavonoides dos extratos, a quantidade varia consoante o tipo de extrato e a espécie de *Lavandula* L. (56).

No ensaio de DPPH os inibidores de referência utilizados foram o BHT e o ácido ascórbico a diferentes concentrações. Neste ensaio todas as amostras demonstraram atividade de neutralização de radicais, apresentando alguns valores de atividade bastante elevados quando comparados com as referências, como por exemplo, as amostras de *L. stoechas* subsp. *luisieri* com concentração de 50 µg/mL, cujo óleo essencial apresentou valores de capacidade de neutralização de radicais livres de  $68,7 \pm 2,9\%$ , o extrato diclorometânico  $63,6 \pm 1,5\%$  e o extrato metanólico  $72,0 \pm 4,4\%$ , enquanto que as percentagens obtidas para o ácido ascórbico a 40 µg/mL foi de  $55,1 \pm 2,9\%$  e para o BHT a 40 µg/mL foi de  $75,4 \pm 1,5\%$ . Em relação à determinação da capacidade de inibição da peroxidação lipídica, a referência utilizada foi, igualmente, o BHT, cuja percentagem de inibição determinada foi de  $22,6 \pm 2,5\%$ . Todos os extratos testados, de ambas as espécies de *Lavandula* L., apresentaram, na generalidade, uma capacidade de inibição da peroxidação lipídica similar ou superior à do BHT, sendo os extratos aquosos e metanólicos de ambas as espécies os que demonstraram a percentagem de inibição mais elevada, com valores entre  $34,6 \pm 1,5\%$  e  $49,1 \pm 0,7\%$ . Por último, quanto ao ensaio de proteção do DNA, todas as amostras, ou seja, quer os óleos essenciais quer os extratos de *L. stoechas* subsp. *luisieri* e *L. pedunculata* (Mill.) Cav., apresentaram uma atividade significativa na proteção do DNA, demonstrando a sua capacidade de proteção contra os danos causados pelos radicais hidroxilo produzidos na reação de Fenton. Os radicais hidroxilo são capazes de reagir com as cadeias de DNA e, conseqüentemente, quebrá-las,

tendo este tipo de reação um papel importante na génese de processos biológicos como o envelhecimento e a carcinogénese (56).

No final do estudo pôde constatar-se que: a maioria das amostras - extratos de *L. stoechas* subsp. *luisieri* e *L. pedunculata* (Mill.) Cav. - apresentaram uma relação direta entre a capacidade de neutralização de radicais livres no ensaio de DPPH e o conteúdo em flavonoides, sendo o extrato de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. o que demonstrou uma melhor correlação; extratos mais polares e, portanto, com uma maior quantidade de compostos fenólicos e flavonoides, foram os que apresentaram uma maior atividade de inibição da peroxidação lipídica. Por último, tanto os extratos como os óleos essenciais foram capazes de preservar a integridade do DNA (56).

Em suma, é possível concluir-se que, para além da atenção que tem sido dada aos óleos essenciais das plantas do género *Lavandula* L., deveria haver, igualmente, um interesse crescente nos extratos obtidos destas plantas, uma vez que, também estes apresentam capacidade antioxidante. Para além disso, concluiu-se neste estudo que, *L. stoechas* subsp. *luisieri* e *L. pedunculata* (Mill.) Cav. poderão servir, ainda, como fonte de novas moléculas químicas com propriedades antioxidantes ou como fonte direta de antioxidantes naturais que poderão ser incorporados, por exemplo, em formulações dermocosméticas como adjuvantes no combate ao envelhecimento (56).

No estudo de Pombal *et al.*, 2016, as partes aéreas, nomeadamente, folhas e flores, de *L. stoechas* subsp. *luisieri*<sup>9</sup> foram colhidas em Penamacor (Beira Interior, Portugal). O óleo essencial extraído dessa planta foi analisado quanto à sua constituição química. O teor em fenóis e flavonoides totais foi também avaliado nos extratos obtidos usando diversos solventes. A relação entre a concentração destes metabolitos e a atividade antioxidante foi também avaliada. O ensaio para a determinação desta propriedade foi o da capacidade de captação dos radicais livres DPPH. O ensaio revelou que os extratos etanólicos das folhas eram os que apresentavam maior atividade antioxidante (71).

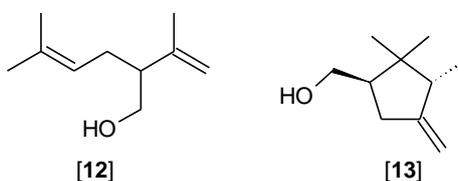
Relativamente à composição química dos óleos essenciais, o estudo concluiu que, apesar das variações quantitativas dos constituintes dos óleos de amostra para amostra, os derivados do necrodano estão sempre presentes, sendo característico desta espécie de *Lavandula* L. (71).

Por último, no estudo de Arantes *et al.*, 2016, existe também uma alusão à atividade antioxidante da espécie *L. stoechas* subsp. *luisieri*. Esta espécie encontra-se bastante

---

<sup>9</sup> A referência consultada refere *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martinez, no entanto o autor do presente trabalho designou *L. stoechas* subsp. *luisieri* (designação atualmente aceite).

difundida pela região do Alentejo e Algarve (Portugal), pelo que as amostras foram recolhidas em Évora (Alentejo, Portugal). Este estudo teve como objetivo analisar o óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* quanto às suas possíveis propriedades farmacológicas, devido à sua composição única e falta de investigação e informação disponível nesta área. A composição química do óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* também foi determinada neste estudo, obtendo-se como principais constituintes o 1,8-cineole (18,8%) [8], lavandulol (11,7%) [12] e derivados do necrodano, nomeadamente o acetato de *trans*- $\alpha$ -necrodilo (16,2%) [9] e o *trans*- $\alpha$ -necrodol (10,6%) [13] que, tal como já referido, são monoterpenoides irregulares característicos deste óleo essencial, não se encontrando presentes em nenhuma outra espécie de *Lavandula* L. (72).



A atividade antioxidante do óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* foi, portanto, avaliada através do ensaio de DPPH e da determinação da inibição da peroxidação lipídica, sendo usado como composto de referência o ácido ascórbico. Para ambos os ensaios, os valores obtidos para os óleos essenciais de *L. stoechas* subsp. *luisieri* estão na mesma ordem de grandeza dos valores obtidos para o ácido ascórbico, observando-se uma capacidade de inibição da peroxidação lipídica superior à atividade antioxidante determinada pelo ensaio de DPPH (72).

Os valores obtidos nestes ensaios permitiram constatar um aumento da capacidade de neutralização dos radicais livres e de inibição da peroxidação lipídica com o aumento proporcional da concentração do óleo. Para além disso, os autores do estudo concluíram, ainda, que a capacidade antioxidante de *L. stoechas* subsp. *luisieri* poderia dever-se à presença de quantidades apreciáveis de monoterpenos oxigenados, tais como o 1,8-cineole [8], lavandulol [12] e derivados do necrodano (72).

Analisando os resultados da avaliação da atividade antioxidante nos vários estudos supramencionados, pode constatar-se que, não é possível comparar os resultados obtidos nos diferentes estudos, uma vez que cada autor recorreu a diferentes métodos para avaliar essa atividade e analisou amostras com concentrações distintas. Mesmo quando um mesmo método de análise é utilizado, como por exemplo o ensaio de DPPH mencionado em cinco dos seis estudos referidos, como as concentrações das amostras são diferentes em cada estudo, os resultados não podem ser comparados, uma vez que a atividade das amostras poderá estar

dependente da sua concentração. Este facto, evidencia, portanto, a necessidade do estabelecimento de metodologias padrão para que os resultados obtidos nos diversos estudos possam ser comparados e, conseqüentemente, validados.

### **Estudo da atividade antifúngica**

O desenvolvimento crescente de resistências por parte dos fungos aos antifúngicos convencionais, o número reduzido de fármacos disponíveis e os efeitos secundários característicos deste tipo de terapêutica, tais como hepatotoxicidade, neurotoxicidade, nefrotoxicidade e reações hematológicas, incentivam a procura de moléculas com propriedades antifúngicas, alternativas aos antifúngicos convencionais, que apresentem um menor nível de toxicidade e uma maior eficácia (65,73,74).

Uma vez que, a medicina tradicional recorria às plantas aromáticas devido às suas propriedades antimicrobianas, várias investigações têm incidido no estudo da possível propriedade antifúngica deste tipo de plantas, nomeadamente, espécies do género *Lavandula* L. e os seus óleos essenciais (65).

No estudo de Zuzarte M. *et al.*, 2009, os óleos essenciais de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. foram caracterizados quanto à sua composição química e atividade antifúngica. Os óleos essenciais analisados foram obtidos a partir das partes aéreas de *L. pedunculata* (Mill.) Cav., colhidas no Norte (Mirandela e Bragança) e Centro (Guarda e Coimbra) de Portugal. A avaliação da atividade antifúngica foi efetuada através do método de macrodiluição em caldo, da concentração mínima inibitória (CMI) e da concentração mínima letal (CML) contra diversas estirpes de fungos envolvidos em candidoses, dermatofitoses e aspergiloses. Os compostos antifúngicos usados como referência neste estudo foram o fluconazol e a anfotericina B. A caracterização química dos óleos essenciais de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. foi também feita recorrendo à GC e à GC/MS (73).

Através da análise por GC e GC/MS dos óleos essenciais de *L. pedunculata* (Mill.) Cav., constatou-se que, apesar de algumas variações qualitativas e quantitativas entre as várias amostras, os constituintes maioritários destes óleos são a fenchona (1,3–59,7%) [10], 1,8-cineole (2,4–55,5%) [8] e cânfora (3,6–48,0%) [11]. Quanto à avaliação da atividade antifúngica, a amostra com maior concentração em cânfora foi a que demonstrou maior atividade contra as estirpes de dermatófitos e contra *Cryptococcus neoformans*, com valores de CMI e CML a variar entre 0,32 e 0,64 µL/mL. Em relação às estirpes de *Candida* e

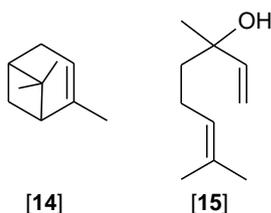
*Aspergillus*, os óleos essenciais apresentaram uma baixa atividade antifúngica, com valores de CMI e CML a variar entre 1,25 e 20,00  $\mu\text{L}/\text{mL}$  (73).

Em suma, os valores obtidos para a CMI e CML confirmaram o potencial antifúngico dos óleos essenciais de *L. pedunculata* (Mill.) Cav., tendo demonstrado uma maior eficácia contra os fungos dermatófitos. Este estudo demonstrou, ainda, que o potencial antifúngico do óleo essencial é superior à soma da atividade de cada um dos seus principais constituintes, o que dificulta a atribuição da atividade biológica a um constituinte em específico e pressupõe a existência de um efeito sinérgico entre os vários componentes do óleo (73).

Deste modo, pode concluir-se que, os óleos essenciais poderão ser encarados como uma fonte alternativa de novos agentes antifúngicos, tendo o óleo essencial de *L. pedunculata* (Mill.) Cav. demonstrado resultados bastante promissores, sobretudo, para o combate de infeções causadas por dermatófitos (73).

Por sua vez, em Zuzarte *et al.*, 2011, foram analisados os óleos essenciais de *L. viridis* quanto à sua composição química e atividade antifúngica contra leveduras, nomeadamente, *Cryptococcus neoformans*, e fungos filamentosos envolvidos em alguns tipos de candidoses vulvovaginais e orais, aspergiloses e dermatofitoses. Estes óleos essenciais foram obtidos a partir das partes aéreas de *L. viridis* colhidas na região de Barranco do Velho e Salir (Algarve, Portugal). A composição química do óleo essencial de *L. viridis* foi avaliada através de GC e GC/MS e a atividade antifúngica foi avaliada através do método da macrodiluição em caldo, dos valores de CMI e CML contra as diversas estirpes de fungos e da aplicação do método da citometria de fluxo. O fluconazol e a anfotericina B foram os compostos antifúngicos usados como referência para a determinação dos valores de CMI e CML e a anfotericina foi a referência usada na análise por citometria de fluxo (74).

A análise por GC e GC/MS demonstrou que o óleo essencial de *L. viridis* é rico em 1,8-cineole (34,5–42,2%) [8], cânfora (13,4%) [11],  $\alpha$ -pineno (9,0%) [14] e linalol (6,7–7,9%) [15] (74).



Quanto à avaliação da atividade antifúngica, os óleos essenciais demonstraram-se mais ativos contra estirpes de dermatófitos e contra *Cryptococcus neoformans*, com valores de CMI e CML a variar entre 0,32 e 0,64  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , apresentando contra estirpes de *Candida*

valores de CMI e CML que variam entre 0,64 e 1,25  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Em relação às estirpes de *Aspergillus*, os óleos essenciais manifestaram uma baixa atividade antifúngica. Os valores obtidos para a CIM e CML permitiram, então, concluir que o óleo essencial apresenta propriedades antifúngicas, principalmente, contra dermatófitos, *Cryptococcus neoformans* e algumas espécies de *Candida*. Relativamente à análise através de citometria de fluxo, os resultados são consistentes com a hipótese de que a ação antifúngica do óleo essencial de *L. viridis* deve-se aos danos provocados na membrana mitocondrial, podendo resultar em rotura da membrana citoplasmática e morte celular, quando o tempo de exposição ao óleo ou a sua concentração são elevados, o que demonstra a potência deste óleo essencial (74).

Este estudo concluiu que, apesar do conteúdo do óleo em  $\alpha$ -pineno parecer o responsável pela sua ação antifúngica, a complexa composição dos óleos essenciais não permite a atribuição direta da atividade biológica a um constituinte em específico, como já referido. O mecanismo de ação dos óleos essenciais mantém-se, portanto, controverso (74)

Em suma, pode constatar-se, ainda, que o amplo espectro de ação e a elevada potência do óleo essencial extraído de *L. viridis* dá o ímpeto necessário para a pesquisa de uma terapêutica antifúngica mais eficaz e segura contra, principalmente, dermatofitoses e candidoses, sendo imperativo a realização de ensaios clínicos (74).

Em Zuzarte *et al.*, 2012, as partes aéreas de *L. stoechas* subsp. *luisieri* foram colhidas no Centro (Piódão) e Sul (Cabo de São Vicente) de Portugal com o intuito de serem estudadas quanto à sua possível ação antifúngica contra leveduras, dermatófitos e estirpes de *Aspergillus* responsáveis pela contaminação de alimentos e infeções em humanos. A partir das partes aéreas colhidas extraíram-se os óleos essenciais, procedendo-se à sua análise química através de GC e GC/MS e à análise das atividades através do método da macrodiluição em caldo, usando como referência o fluconazol e a anfotericina B (65).

Após a análise por GC e GC/MS, constatou-se que os principais componentes do óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* presentes em todas as amostras são os derivados do necrodano (monoterpenos irregulares), característicos desta espécie, podendo os outros constituintes do óleo sofrer algumas oscilações quantitativas, nomeadamente no seu conteúdo em 1,8-cineole [8] e fenchona [10]. Através do método da macrodiluição em caldo foi possível determinar a CMI e CML para os diferentes tipos de fungos em estudo. Os óleos essenciais demonstraram-se mais ativos contra as estirpes de dermatófitos, cujos valores de CMI e CML variaram entre 0,16 e 1,25  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Para as estirpes de *Candida* e para o *Cryptococcus neoformans*, os valores de CMI e CML obtidos variaram entre 0,64 e 2,50  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Em relação às estirpes de *Aspergillus*, os óleos essenciais apresentaram uma atividade

antifúngica bastante variável, com valores de CMI e CML a variar entre 0,32 e 20,00  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Através da comparação dos valores obtidos para a CMI e CML e da determinação da composição química dos óleos essenciais, os autores do estudo constataram que uma maior concentração em derivados do necrodano resultava numa maior atividade antifúngica. Para além disso, foi ainda analisado o potencial citotóxico deste óleo essencial em macrófagos de ratinho, de forma a avaliar o nível de toxicidade sobre as células mamíferas, obtendo-se um menor grau de toxicidade para as amostras com menor concentração em monoterpenos irregulares (65).

Deste modo, os resultados obtidos neste estudo comprovam a utilidade do óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* no desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos e conservantes alimentares, uma vez que demonstraram o seu poder antifúngico contra fungos capazes de contaminar alimentos e causar infeções em humanos, mesmo os óleos que possuem baixa concentração em derivados de necrodano, ou seja, aqueles que apresentam uma baixa toxicidade para a células mamíferas (65).

Por último, no ensaio de Batista *et al.*, 2015, já referido, para além da avaliação da atividade antioxidante de *L. stoechas* subsp. *luisieri* e *L. pedunculata* (Mill.) Cav., foi também analisada a possível atividade antifúngica destas plantas. A ação antifúngica dos extratos e óleos essenciais foi avaliada contra diferentes espécies de fungos, selecionados devido à sua importância como agentes patogénicos oportunistas em humanos, através do método da microdiluição em caldo. Com este método foi possível determinar a CMI dos extratos e óleos essenciais contra os vários fungos em estudo. Os extratos e óleos essenciais de *L. stoechas* subsp. *luisieri* apresentaram atividade antifúngica contra sete das doze espécies em estudo, com valores de CMI a variar entre 7,5 e 62,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Relativamente aos extratos e óleos essenciais de *L. pedunculata* (Mill.) Cav., estes demonstraram atividade apenas contra quatro das doze espécies de fungos, cujos valores de CMI variaram entre 15,5 e 62,5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . A partir dos valores de CMI obtidos, concluiu-se, então, que *L. stoechas* subsp. *luisieri* apresentou um espetro de atividade mais amplo do que *L. pedunculata* (Mill.) Cav., demonstrando-se, portanto, mais eficaz contra uma maior variedade de fungos (56).

Em suma, as propriedades antioxidante e antifúngica de *L. stoechas* subsp. *luisieri* e *L. pedunculata* (Mill.) Cav. evidenciadas neste estudo, comprovam o potencial contributo destas plantas no desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que a partir destas podem ser isolados compostos com atividade biológica e, ainda, a sua aplicação direta como antioxidantes naturais e como agentes antifúngicos (56).

A partir da análise dos resultados obtidos em Zuzarte M. *et al.*, 2009, Zuzarte *et al.*, 2011, e Zuzarte *et al.*, 2012, é possível concluir que as espécies de *Lavandula* L. analisadas através do método da microdiluição em caldo, apresentaram, regra geral, uma ação antifúngica mais eficaz contra estirpes de dermatófitos e uma atividade mais baixa contra estirpes de *Aspergillus*. Assim, pode constatar-se a importância das plantas do género *Lavandula* L. na pesquisa de novas terapêuticas antifúngicas, principalmente contra dermatofitoses (65,73,74). Apesar da comparação direta dos resultados obtidos nos quatro estudos supramencionados não poder ser efetuada, uma vez que a metodologia utilizada para a avaliação da atividade antifúngica não foi a mesma, importa salientar que as atividades encontradas são sempre boas, independentemente do método, o que reforça o potencial antifúngico das espécies de *Lavandula* L. encontradas em Portugal.

### **Estudo da atividade antibacteriana**

Um dos grandes problemas de saúde pública em que a humanidade se debate, atualmente, é a crescente resistência dos agentes patogénicos aos antibióticos disponíveis, devido à falta de investigação de novos agentes antibacterianos e ao seu uso indiscriminado. Por conseguinte, doenças infecciosas que antigamente era facilmente tratáveis, podem tornar-se incuráveis e levar mesmo à morte do indivíduo. Os produtos naturais de origem vegetal podem ser uma fonte promissora de novas moléculas ou de compostos que sirvam de padrão para o desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos, pelo que várias investigações têm sido desenvolvidas com o intuito de encontrar novas moléculas na natureza com propriedades antibacterianas capazes de combater microrganismos multirresistentes (75).

No estudo de Lai *et al.*, 2012, os extratos obtidos a partir das partes aéreas de *L. stoechas* subsp. *luisieri* colhidas na região de Grândola (Sudoeste de Portugal) foram analisadas quanto à sua composição química, através de cromatografia em camada fina ou *thin-layer chromatography* (TLC), e quanto à sua atividade antibacteriana, através do método de microdiluição em caldo (75).

A análise por TLC demonstrou que os extratos de *L. stoechas* subsp. *luisieri* são ricos em compostos fenólicos, flavonoides e terpenos. Por sua vez, a aplicação do método de microdiluição em caldo permitiu a determinação da CMI dos extratos contra estirpes padrão e resistentes de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e *Mycobacterium smegmatis*. Os valores de CMI obtidos comprovaram a ação antibacteriana das amostras, tendo os extratos

apresentado, por exemplo, contra as estirpes resistentes de *Staphylococcus aureus* valores de CMI entre 62,0 e 125,0 µg/mL (75).

Apesar de, em estudos anteriores, já se ter relacionado o conteúdo em compostos fenólicos e flavonoides com a atividade antibacteriana dos extratos de plantas, esta investigação concluiu, ainda, que a presença dos terpenos pode estar envolvida na inibição do desenvolvimento bacteriano, pelo que a atividade antibacteriana dos extratos pode ser resultante de um efeito sinérgico entre os compostos fenólicos, flavonoides e terpenos. Concluíram, também, que os extratos apresentaram, em geral, uma maior atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas e *Mycobacterium smegmatis*. Em suma, foi possível constatar, com este estudo, que poderá estar na natureza a resposta para o problema das bactérias multirresistentes (75).

Em Teixeira *et al.*, 2012, avaliou-se, igualmente, a composição química através de TLC dos extratos e a atividade antibacteriana contra estirpes padrão e resistentes de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e *Mycobacterium smegmatis*, através da determinação da CMI, mas, neste caso, dos extratos obtidos a partir das partes floridas de *L. stoechas* subsp. *luisieri* e *L. pedunculata* (Mill.) Cav., colhidas nas regiões do Centro e Sudoeste de Portugal (76).

A partir da determinação da composição química por TLC, pôde constatar-se que os extratos são ricos em compostos fenólicos, flavonoides e terpenos, tendo os extratos de *L. stoechas* subsp. *luisieri* apresentado uma maior concentração em compostos fenólicos e terpénicos. Esta espécie apresentou, também, os valores mais baixos para a CMI, demonstrando que os extratos de *L. stoechas* subsp. *luisieri* são os que apresentam uma maior atividade antibacteriana contra as estirpes em estudo, apresentando, por exemplo, uma CMI de 62,0 µg/mL para estirpes de *Staphylococcus aureus*, o que apoia a possível relação entre o conteúdo em compostos fenólicos e terpénicos e o potencial antibacteriano. Para além disso, este estudo corrobora, igualmente, com a hipótese de que a ação antibacteriana dos extratos resulta de uma sinergia entre compostos fenólicos, flavonoides e terpenos (76).

Em suma, este estudo vem apoiar o possível contributo das espécies do género *Lavandula* L. na procura por novos e mais eficazes antibacterianos capazes de combater a resistência aos antibióticos (76).

No ensaio de Pombal *et al.*, 2016, supracitado, para além da avaliação da composição química e da atividade antioxidante dos óleos essenciais extraídos das folhas e flores de *L. stoechas* subsp. *luisieri*, foi também analisada a sua possível atividade antibacteriana contra *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus*. A atividade antibacteriana foi

avaliada com recurso a três técnicas: difusão em agar com cavidades cilíndricas, teste da difusão de vapor em placa de agar e determinação da CMI e concentração mínima bactericida (CMB) através do método da macrodiluição, sendo usado como controlo a gentamicina e a penicilina G (71).

Ambos os métodos, difusão com cavidades e difusão de vapor, demonstraram, tanto para os óleos essenciais extraídos das folhas como para os extraídos das flores de *L. stoechas* subsp. *luisieri*, uma maior ação antibacteriana contra *S. aureus* e menor contra *Salmonella* spp. Em relação à determinação da CMI e CMB, óleos essenciais extraídos das folhas e flores apresentaram um valor de 22,0 µg/mL para as três estirpes bacterianas, exceto os óleos essenciais extraídos das folhas testados contra *S. aureus* que demonstraram uma CMI e CMB de 11,0 µg/mL. Em suma, os valores obtidos para a CMI e CMB confirmam o potencial antibacteriano destes óleos essenciais, evidenciando, igualmente, uma maior atividade contra *S. aureus* comparativamente à atividade contra *E. coli* e *Salmonella* spp. (71).

Os autores do estudo concluíram que o acetato de *trans*- $\alpha$ -necrodilo é, provavelmente, o constituinte responsável pela atividade antibacteriana, uma vez que é o composto presente em todas as amostras, que se encontra em maior concentração. No entanto, defenderam, igualmente, que a atividade antibacteriana não pode ser resultante da ação de um mecanismo isolado, uma vez que, a complexa composição característica dos óleos essenciais pressupõe a existência de um conjunto de compostos capazes de atuar em vários alvos celulares. Este estudo vem, então, reforçar o interesse no potencial antibacteriano das plantas do género *Lavandula* L. (71).

Por fim, em Arantes *et al.*, 2016, para além da análise da composição química e atividade antioxidante de *L. stoechas* subsp. *luisieri*, também a sua possível ação antibacteriana e toxicidade foram avaliadas. A atividade antibacteriana do óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* foi testada contra estirpes de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas resistentes a antibióticos, através de dois métodos, nomeadamente, ensaio de difusão em disco de papel e determinação da CMI. No ensaio de difusão em disco foram utilizados como controlo os seguintes antibióticos: amoxicilina/ácido clavulânico, gentamicina e tetraciclina (72).

Os resultados obtidos em ambos os ensaios permitiram verificar o amplo espectro de ação antibacteriana dos óleos essenciais contra as estirpes em estudo e uma eficácia, em alguns casos, superior à de fármacos antibacterianos convencionais, como por exemplo, para a estirpe de *Morganella morgani* resistente à amoxicilina/ácido clavulânico e à tetraciclina, a zona de inibição obtida no ensaio de difusão em disco foi de  $9,0 \pm 0,1$  mm e o valor de CMI

de  $500,0 \pm 5,0$  µg/mL. Este estudo permitiu, igualmente, relacionar o elevado conteúdo em monoterpenos oxigenados, como o 1,8-cineole, com esta elevada capacidade antibacteriana. O mesmo estudo relacionou, ainda, a atividade antibacteriana dos óleos essenciais e a interrupção da continuidade da membrana celular, o que possibilita a entrada dos constituintes do óleo no interior das células. Esta última hipótese é corroborada pelo facto das bactérias Gram-positivas apresentarem, geralmente, uma maior suscetibilidade aos óleos essenciais do que as Gram-negativas, uma vez que estas possuem uma membrana externa coberta por lipopolissacarídeos, responsáveis pela restrição da difusão de compostos hidrofóbicos (72).

Por sua vez, a toxicidade do óleo essencial foi avaliada, inicialmente, através de um bioensaio preliminar de letalidade das larvas de camarão de salmoura, que permitiu a determinação da concentração letal que corresponde a 50% de larvas mortas (CL<sub>50</sub>), cujo valor obtido foi de 109,8 µg/mL e a referência considerada foi o dicromato de potássio com uma CL<sub>50</sub> de 50,2 µg/mL. Através deste bioensaio preliminar, foi possível constatar a proporcionalidade direta entre a concentração do óleo essencial e o seu grau de letalidade. Seguidamente, a toxicidade oral aguda em ratinhos foi avaliada, através da determinação da dose que causa a morte a 50% dos animais (DL<sub>50</sub>), após administração oral do óleo, e através de estudos histológicos morfométricos realizados ao fígado e rins logo após a dissecação. Os resultados dos testes de toxicidade demonstraram que o óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* apresenta, de uma forma geral, uma baixa toxicidade, não tendo manifestado implicações significativas no sistema hepático e função renal (72).

A partir da análise da atividade antibacteriana das plantas do género *Lavandula* L., citada nos estudos supramencionados, foi possível constatar que todos os estudos sugerem a existência de um efeito sinérgico entre os vários constituintes das plantas deste género, o que possibilita a ação sobre vários alvos celulares, dificultando o desenvolvimento de resistências por parte das bactérias (71,72,75,76). Para além disso, a análise dos extratos obtidos em Lai *et al.*, 2012, e Teixeira *et al.*, 2012, permitiu evidenciar o elevado conteúdo em compostos fenólicos, flavonoides e terpenos (75,76). Pôde inferir-se, ainda, com base nestes estudos, que os extratos e óleos essenciais analisados demonstraram maior atividade antibacteriana contra bactérias Gram-positivas (71,72,75).

### **Estudo da atividade anti-inflamatória**

No ensaio de Arantes *et al.*, 2016, supramencionado, para além da avaliação da composição química, atividade antioxidante e antibacteriana dos óleos essenciais de *L.*

*stoechas* subsp. *luisieri*, foi, ainda, analisada a possibilidade de estes apresentarem propriedades anti-inflamatórias. A possível atividade anti-inflamatória dos óleos essenciais foi, então, avaliada através do teste do edema de pata induzido por carragenina em ratos e usando como fármaco de referência a dexametasona a 1 mg/Kg (72).

As percentagens de redução do edema obtidas para dosagens de óleo essencial de 50, 100 e 200 mg/Kg foram 31%, 52% e 83%, respetivamente, enquanto que a percentagem obtida pela dexametasona (1 mg/Kg) foi de 69%, ou seja, inferior à demonstrada pela dose mais elevada de óleo essencial. Através dos resultados obtidos neste teste foi possível inferir que o óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* apresenta atividade anti-inflamatória e que a percentagem de redução do edema é dependente da dose de óleo essencial administrada. No entanto, não foi possível associar esta atividade biológica a um constituinte do óleo em específico, sobressaindo apenas o possível contributo do 1,8-cineole (72).

Em conclusão, o óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri* apresentou, nos diversos estudos, propriedades antioxidante, antifúngica, antibacteriana e, ainda, anti-inflamatória. Para além disso, em Zuzarte *et al.*, 2012, e Arantes *et al.*, 2016, o óleo exibiu uma baixa toxicidade quando testado em ratinhos. Portanto, pode inferir-se que o óleo essencial de *L. stoechas* subsp. *luisieri*, devido às suas importantes propriedades farmacológicas e baixa toxicidade é um candidato promissor para o desenvolvimento de novos fármacos (65,72).

### **8.3. Rosmaninho: novos horizontes**

Tradicionalmente, os óleos essenciais de *Lavandula* L. têm sido muito utilizados, no entanto, a maioria dos estudos realizados até hoje são inconclusivos ou apresentam resultados controversos (73). Particularmente, no caso das espécies conhecidas como rosmaninho, pode inferir-se, a partir dos estudos supracitados, que ainda não existem dados científicos consistentes que consigam validar o recurso ao rosmaninho pela medicina tradicional para tratar as diversas patologias, tais como tosse, bronquite, dispepsia, cefaleia, obstipação, entre outras. Para que as suas propriedades farmacológicas sejam comprovadas é necessário o recurso a métodos padrão, robustos e reproduzíveis, nomeadamente estudos de atividade fitoquímica e biológica, bem como a realização de ensaios clínicos que comprovem a eficácia e segurança da sua utilização em medicina (6,73).

Os óleos essenciais obtidos a partir de espécies de rosmaninho apresentaram, nos estudos supramencionados, uma interessante atividade antimicrobiana, quer contra bactérias

quer contra fungos, uma vez que apresentam uma complexa composição química, em que os seus constituintes são capazes de atuar em diferentes alvos, dificultando o processo de desenvolvimento de espécies resistentes (65,72,76). No entanto, torna-se de extrema importância o desenvolvimento de culturas e, subsequente seleção de quimiotipos, de forma a controlar a qualidade e homogeneidade do produto final e preservar os recursos naturais, bem como a realização de mais estudos *in vitro* e *in vivo* (73). Consequentemente poderá haver uma melhor compreensão dos mecanismos de ação que estão na base da sua atividade biológica e a determinação do seu nível de toxicidade e eficácia, para que possam ser utilizados diretamente na medicina ou nos processos de desenvolvimento de novos fármacos (65,74). Concluindo, num futuro próximo, a solução para o combate de estirpes multirresistentes de bactérias ou fungos poderá ser encontrada na natureza que, desde sempre, tem sido uma fonte de agentes terapêuticos para o Homem.

A análise, sobretudo, do potencial antioxidante, antibacteriano e antifúngico das espécies portuguesas de *Lavandula* L. conhecidas por rosmaninho, poderá contribuir, não só para a validação da sua utilidade em medicina, mas também como incentivo à economia nacional, valorização da biodiversidade existente e promoção da sua utilização de forma sustentável, uma vez que o rosmaninho ocorre espontaneamente em Portugal, sendo algumas regiões do país bastante ricas neste tipo de plantas aromáticas, como por exemplo, a região do Algarve (8,56).

A investigação pelo género *Lavandula* L. tem merecido uma especial atenção pela comunidade científica, apresentando uma vasta atividade de pesquisa em diversos países (77–79). No entanto, de forma a melhorar investigações futuras, a colaboração internacional deveria ser mais incentivada, de forma a promover uma maior e melhor partilha da informação, um maior apoio financeiro e auxílio em termos de infraestruturas adequadas e, ainda, uma maior visibilidade das publicações científicas nesta área de estudo. Para além disso, torna-se essencial encontrar uma estratégia que possibilite reunir numa só fonte toda a informação relativa às espécies de *Lavandula* L., uma vez que a literatura existente acerca deste género de plantas encontra-se bastante dispersa, não existindo, por exemplo, fontes principais contendo literatura exaustiva acerca deste assunto. Assim, ao reunir numa só fonte toda a informação disponível, a consulta da informação/estudos seria facilitada e iria, ainda, contribuir para investigações futuras mais aprofundadas (80).

## 9. Perspetivas futuras e o papel do farmacêutico

O uso de plantas como fonte de agentes terapêuticos tem acompanhado a evolução da humanidade e, conseqüentemente, o crescimento do universo farmacêutico (20). O recurso ao reino vegetal, nomeadamente, a espécies do género *Lavandula* L., encontra-se presente em diversas áreas de intervenção farmacêutica, tais como investigação, indústria, regulamentação e farmácia comunitária.

Na área de investigação científica, importa salientar o contributo dos produtos naturais no desenvolvimento de novos fármacos. Em particular, as plantas são capazes de fornecer compostos complexos, cuja síntese química seria praticamente impossível, podendo servir como modelos de síntese para a produção de compostos semissintéticos com maior eficácia e/ou menor toxicidade ou para a extração de compostos bioativos que podem ser diretamente utilizados como fármacos (20,38). Recai, portanto, sobre o farmacêutico a tarefa de integração nas equipas de investigação, quer na fase de pesquisa e desenvolvimento de metodologias padrão, quer no incentivo à realização de mais ensaios clínicos nesta área.

Relativamente à indústria farmacêutica, o farmacêutico pode interferir de modo a valorizar o contributo dos produtos naturais no desenvolvimento de novos fármacos, pois estes poderão trazer algumas vantagens quando comparados com a pesquisa através de química combinatória e triagem de alta produtividade (20). Para além disso, o farmacêutico pode também estar envolvido no desenvolvimento e otimização de fármacos e suplementos alimentares à base de plantas, bem como formulações dermocosméticas.

O recurso às espécies portuguesas de *Lavandula* L., por parte da indústria farmacêutica, poderá estimular a economia nacional e valorizar a biodiversidade do território português, uma vez que espécies de *Lavandula* L., como por exemplo as popularmente conhecidas por rosmaninho, são espontâneas em Portugal, sendo algumas delas bastante predominantes (8,56).

Ao nível da regulamentação, o farmacêutico deve, ainda, colaborar na elaboração de regulamentação específica relacionada com medicamentos à base de plantas, uma vez que é evidente a falta de um controlo efetivo da eficácia e segurança deste tipo de medicamentos, o que compromete a sua utilização (42).

Por último, um papel bastante importante a desempenhar pelo farmacêutico comunitário passa pela consciencialização dos utentes e desmistificação relativamente aos medicamentos e outros produtos à base de plantas, uma vez que uma grande parte da população, atraída pelo

conhecimento tradicional ou por modas passageiras, acredita que “tudo o que é natural não faz mal”. Portanto, é da responsabilidade deste profissional de saúde alertar a população de que os produtos naturais apresentam uma atividade biológica, tal como os compostos sintéticos, podendo estabelecer interações com outros fármacos que sejam administrados concomitantemente e, ainda, causar reações adversas. Para tal, é crucial que os farmacêuticos tenham mais formação na área da fitoterapia, pois só assim conseguirão transmitir os seus conhecimentos à população.

## 10. Conclusão

Desde sempre que o Homem depende do recurso a plantas quer como fonte de matéria médica para a medicina tradicional, quer como fonte de investigação futura na área da saúde. A natureza tem demonstrado ao longo do tempo o seu papel importantíssimo na pesquisa por novos agentes terapêuticos, são disso exemplo os fármacos de enorme sucesso que vieram revolucionar o mundo da medicina e salvar milhares de vidas humanas, nomeadamente, a quinina, morfina, salicilina, vincristina e vimblastina, etoposido e teniposido. Esses fármacos são de tal forma importantes que continuam a ser mundialmente utilizados devido à sua eficácia e/ou ausência de um substituto similar.

Para além disso, os compostos com atividade biológica isolados das plantas, mesmo que não possam ser diretamente utilizados como fármacos, podem auxiliar na compreensão dos mecanismos que desencadeiam a doença, promovendo a descoberta de novos fármacos com mecanismos de ação diferentes e, conseqüentemente, com maior eficácia (37).

Relativamente à indústria farmacêutica, concluiu-se que o seu foco de interesse teve que incidir novamente sobre os produtos naturais, uma vez que não têm sido lançados para o mercado fármacos realmente inovadores devido, sobretudo, à falta de compostos que sirvam de modelo de síntese e aos complexos, morosos e dispendiosos processos do desenvolvimento de novos fármacos. Conseqüentemente, recai sobre a etnofarmacologia a esperança de encontrar novos modelos de síntese e, para além disso, a diminuição dos custos da investigação, uma vez que esta promove uma redução do tempo de pesquisa comparativamente com um *screening* aleatório de amostras. A etnofarmacologia poderá, ainda, possibilitar a resolução de diversos problemas, nomeadamente, a criação de resistência a fármacos por parte dos microrganismos, os efeitos adversos causados pelos fármacos atuais e, ainda, as doenças emergentes que ainda não têm um tratamento disponível (49,50).

Nas últimas duas décadas, o número de plantas estudadas do ponto de vista etnofarmacológico tem aumentado, tendo o género *Lavandula* L. merecido uma especial atenção pela comunidade científica, nomeadamente em Portugal. Ocorrem, espontaneamente, em Portugal cinco espécies de *Lavandula* L., nomeadamente, *Lavandula latifolia* Medik., *Lavandula multifida* L., *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav., *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira e *Lavandula viridis* L'Hér. (55). Por sua vez, as espécies portuguesas de *Lavandula* L. conhecidas popularmente por rosmaninho são: *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav., *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* (Rozeira) Rozeira e *Lavandula*

*viridis* L'Hér. (8). Vários são os relatos da utilização do rosmaninho na medicina tradicional, o que tem motivado a realização de vários estudos nesta área, no sentido de tentar encontrar dados científicos que consigam validar o uso concreto do rosmaninho nas diversas patologias referidas pela medicina tradicional (6,7).

A partir desta dissertação, concluiu-se que ainda não é possível validar o uso concreto de cada uma das espécies de rosmaninho no tratamento das principais patologias para que são tradicionalmente utilizadas. Apesar de existirem relatos da utilização destas plantas pela medicina tradicional no tratamento de patologias como constipação, tosse, dispepsia, urticária, cefaleias, ansiedade e dores menstruais, os estudos já realizados apenas conseguiram comprovar a existência de atividade biológica por parte dos extratos e óleos essenciais destas plantas, nomeadamente, capacidade de inibição da acetilcolinesterase, atividade antioxidante, antifúngica, antibacteriana e anti-inflamatória. No futuro, torna-se, portanto, essencial apostar nesta área de investigação para que se consiga validar o uso concreto do rosmaninho em medicina.

No âmbito da investigação da atividade biológica das espécies de rosmaninho torna-se urgente o estabelecimento de métodos padrão, robustos e reprodutíveis, para que os resultados obtidos em diversos estudos possam ser diretamente comparados e, conseqüentemente, validados. Para além disso, torna-se evidente a inexistência de ensaios clínicos realizados nesta área, pelo que será necessário incentivar a indústria farmacêutica a investir neste tipo de investigação para que seja possível a realização de ensaios *in vitro* e *in vivo* e, conseqüentemente, avaliação efetiva da eficácia e segurança da utilização destas plantas para finalidades terapêuticas (42,73).

No entanto, importa salientar algumas conclusões relevantes dos estudos apresentados nesta dissertação. Uma conclusão interessante incidiu no elevado potencial dos constituintes presentes em *L. pedunculata* (Mill.) Cav. e *L. viridis* para a terapêutica da doença de Alzheimer, uma vez que reúnem duas características essenciais ao sucesso desta terapêutica – capacidade de inibição da acetilcolinesterase e atividade antioxidante (63,67). Adicionalmente, vários extratos e óleos essenciais de espécies de rosmaninho demonstraram atividade antibacteriana contra espécies resistentes a alguns antibióticos convencionais, possivelmente devido ao efeito sinérgico entre os seus diversos constituintes e, conseqüente, ação sobre diferentes alvos, o que poderá ser um forte contributo no combate futuro às bactérias multirresistentes (72,75,76).

## 11. Bibliografia

1. Proença da Cunha A, Ribeiro J, Roque O. *O emprego das plantas aromáticas desde as antigas civilizações até ao presente*. Fundação Calouste Gulbenkian, editor. Lisboa; 2009. 19 p.
2. Camejo-Rodrigues J, Ascensão L, Bonet MÀ, Vallès J. An ethnobotanical study of medicinal and aromatic plants in the Natural Park of “Serra de São Mamede” (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*. 2003;89(2–3):199–209.
3. Gilani A, Atta-ur-Rahman. Trends in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;100:43–9.
4. McGonigle IV. Spirits and Molecules: Ethnopharmacology and Symmetrical Epistemological Pluralism. *Ethnos*. 2015;82:139–64.
5. Holmstedt B. Historical perspective and future of ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 1991;32(1):7–24.
6. Neves J, Matos C, Moutinho C, Queiroz G, Rebelo L. Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*. 2009;124:270–83.
7. Figueiredo AC, Pedro LG, Barroso JG, Trindade H, Sanches J, Oliveira C, et al. *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martínez e *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav. *AGROTEC*. 2014;38–41.
8. Matos F, Miguel MG, Duarte J, Venâncio F, Correia AID, Figueiredo AC, et al. Antioxidant capacity of the essential oils from *Lavandula luisieri*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica*, *L. stoechas* subsp. *lusitanica* x *L. luisieri* and *L. viridis* grown in Algarve (Portugal). *Journal of Essential Oil Research*. 2009;21:327–36.
9. Gurib-Fakim A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*. 2006;27(1):1–93.
10. Petrovska B. Historical review of medicinal plants’ usage. *Pharmacognosy Review*. 2012;6(11):1–5.
11. Proença da Cunha A, Ribeiro J, Roque O. *O emprego das plantas aromáticas desde as antigas civilizações até ao presente*. Fundação Calouste Gulbenkian, editor. Lisboa; 2009. 19-30 p.
12. Yun B-W, Yan Z, Amir R, Hong S, Jin Y-W, Lee E-K, et al. Plant natural products: history, limitations and the potential of cambial meristematic cells. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*. 2012;28(1):47–60.
13. Dias DA, Urban S, Roessner U. A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites*. 2012;2(2):303–36.
14. Renslo AR. Antimalarial drug discovery: From quinine to the dream of eradication. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2013;4(12):1126–8.
15. Sneader W. *Drug Discovery: A History*. Chichester; 2006. 10-360 p.
16. Cragg GM, Newman DJ. Natural products: A continuing source of novel drug leads.

- Biochimica Biophysica Acta - General Subjects*. 2013;1830(6):3670–95.
17. World Health Organization. World malaria report 2016. 2016.
  18. World Health Organization. Essential Medicines and Health Products Information Portal [Internet]. 2017 [cited 2017 Apr 6]. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/en/d/Jh2922e/2.5.2.html#Jh2922e.2.5.2>
  19. Hamilton GR, Baskett TF. In the arms of Morpheus: the development of morphine for postoperative pain relief. *Canadian Journal of Anesthesia*. 2000;47:367–74.
  20. Atanasov AG, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig EM, Linder T, Wawrosch C, Uhrin P, et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. *Biotechnology Advances*. 2015;33(8):1582–614.
  21. Ji H-F, Li X-J, Zhang H-Y. Natural products and drug discovery. *EMBO Reports*. 2009;10(3):194–200.
  22. Rishton GM. Natural Products as a Robust Source of New Drugs and Drug Leads: Past Successes and Present Day Issues. *American Journal of Cardiology*. 2008;101:43D–49D.
  23. Mahdi JG, Mahdi AJ, Mahdi AJ, Bowen ID. The historical analysis of aspirin discovery, its relation to the willow tree and antiproliferative and anticancer potential. *Cell Proliferation*. 2006;39(2):147–55.
  24. Sneader W. The discovery of aspirin: a reappraisal. *British Medical Journal*. 2000;321(7276):1591–4.
  25. Kulkarni RN, Baskaran K, Jhang T. Breeding medicinal plant, periwinkle [*Catharanthus roseus* ( L ) G . Don]: a review. *Plant Genetic Resources Characterization and Utilization*. 2016;14:283–302.
  26. Noble RL. The discovery of the vinca alkaloids - chemotherapeutic agents against cancer. *Biochemistry and Cell Biology*. 1990;68(12):1344–51.
  27. Khazir J, Mir BA, Mir SA, Cowan D. Natural products as lead compounds in drug discovery. *Journal of Asian Natural Products Research*. 2013;15:764–88.
  28. Moudi M, Go R, Yien CY, Nazre M. Vinca alkaloids. *International Journal of Preventive Medicine*. 2013;4(11):1231–5.
  29. Gordaliza M. Natural products as leads to anticancer drugs. *Clinical and Translational Oncology*. 2007;9(12):767–76.
  30. Potterat O, Hamburger M. Drug discovery and development with plant-derived compounds. In: Petersen F, Amstutz R, editors. *Natural Compounds as Drugs*. Basileia; 2008. p. 46–118.
  31. World Health Organization. Proposed list of cancer medicines [Internet]. 2014 [cited 2017 May 11]. p. 6–7. Available from: [http://www.who.int/selection\\_medicines/committees/expert/20/applications/LIST\\_CANCER\\_MEDS.pdf](http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/20/applications/LIST_CANCER_MEDS.pdf)
  32. Naeem M, Aftab T, Khan M, editors. *Catharanthus roseus: Current Research and Future Prospects*. Cham: Springer Nature; 2017. 143 p.

33. Bohlin L, Rosén B. Podophyllotoxin derivatives: drug discovery and development. *Drug Discovery Today*. 1996;1(8):343–51.
34. Imbert TF. Discovery of podophyllotoxins. *Biochimie*. 1998;80:207–22.
35. Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*. 2005;78(5):431–41.
36. Canel C, Moraes RM, Dayan FE, Ferreira D. Podophyllotoxin. *Phytochemistry*. 2000;54(2):115–20.
37. Khazir J, Mir BA, Pilcher L, Riley DL. Role of plants in anticancer drug discovery. *Phytochemistry Letters*. 2014;7:173–81.
38. Fabricant DS, Farnsworth NR. The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental Health Perspectives*. 2001;109(SUPPL. 1):69–75.
39. Patridge E, Gareiss P, Kinch MS, Hoyer D. An analysis of FDA-approved drugs: Natural products and their derivatives. *Drug Discovery Today*. 2015;21(2):204–7.
40. Cordell GA. Sustainable medicines and global health care. *Planta Medica*. 2011;77(11):1129–38.
41. WHO. *WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023*. WHO. 2013. 8-15 p.
42. Sahoo N, Manchikanti P, Dey S. Herbal drugs: Standards and regulation. *Fitoterapia*. 2010;81(6):462–71.
43. Rafieian-kopaei M. Medicinal plants and the human needs. *Journal of HerbMed Pharmacology*. 2012;1(1):1–2.
44. Leal MC, Hilário A, Munro MHG, Blunt JW, Calado R. Natural products discovery needs improved taxonomic and geographic information. *Natural Product Reports*. 2016;33:747–50.
45. Ministério da Saúde. Decreto-Lei nº176/2006 de 30 de Agosto [Internet]. Diário da República, 1ª série - Nº 167 - 30 de Agosto de 2006. 2006 [cited 2017 Apr 18]. p. 6297–383. Available from: <https://www.sns.gov.pt/wp-content/uploads/2016/10/Decreto-Lei-n.º-176-2006..pdf>
46. Vemulpad S, Jamie J. *Recent advances in plant-based, tradicional, and natural medicines*. Toronto: Apple Academic Press; 2014. 1-5 p.
47. Graz B. What is “clinical data”? Why and how can they be collected during field surveys on medicinal plants? *Journal of Ethnopharmacology*. 2013;150(2):775–9.
48. Leonti M, Stafford GI, Cero MD, Cabras S, Castellanos ME, Casu L, et al. Reverse ethnopharmacology and drug discovery. *Journal of Ethnopharmacology*. 2017;198:417–31.
49. Patwardhan B. Ethnopharmacology and drug discovery. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005;100:50–2.
50. Khamkar AD, Motghare VM, Deshpande R. Ethnopharmacology-A Novel Approach for Drug Discovery. *Indian Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2015;2(4):222–5.
51. Comissão sobre Direitos de Propriedade Intelectual. *Integrando Direitos de Propriedade Intelectual e Política de Desenvolvimento*. 2003.73 p.

52. Hamilton C. Biodiversity, biopiracy and benefits: What allegations of biopiracy tell us about intellectual property. *Developing World Bioethics*. 2006;6:158–73.
53. Ningthoujam SS, Talukdar A Das, Potsangbam KS, Choudhury MD. Challenges in developing medicinal plant databases for sharing ethnopharmacological knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*. 2012;141(1):9–32.
54. Leonti M, Casu L. Traditional medicines and globalization: current and future perspectives in ethnopharmacology. *Frontiers in Pharmacology*. 2013;4:1–13.
55. Franco J. *Nova Flora de Portugal (Continente e Açores)*. Lisboa; 1984. 186-89 p.
56. Baptista R, Madureira AM, Jorge R, Adão R, Duarte A, Duarte N, et al. Antioxidant and Antimycotic Activities of Two Native *Lavandula* Species from Portugal. *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine*. 2015;1–10.
57. Cavanagh HMA, Wilkinson JM. Biological Activities of Lavender Essential Oil. *Phytotherapy Research*. 2002;16:301–308.
58. Flora.on [Internet]. [cited 2017 Aug 28]. Available from: <http://flora-on.pt/#/1lavandula+multifida>
59. Flora.on [Internet]. [cited 2017 Sep 8]. Available from: <http://flora-on.pt/#/1lavandula+pedunculata>
60. Flora.on [Internet]. [cited 2017 Sep 16]. Available from: <http://flora-on.pt/index.php#/1Lavandula+stoechas>
61. Flora.on [Internet]. [cited 2017 Aug 28]. Available from: <http://flora-on.pt/index.php#/1lavandula+viridis>
62. Rivera D, Obón C. The ethnopharmacology of Madeira and Porto Santo Islands, a review. *Journal of Ethnopharmacology*. 1995;46(2):73–93.
63. Ferreira A, Proença C, Serralheiro MLM, Araújo MEM. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006;108:31–7.
64. Tavares AC, Zuzarte MR, Salgueiro LR. *Plantas Aromáticas e Mediciniais*. Imprensa da Universidade de Coimbra. Coimbra; 2008. 75 p.
65. Zuzarte M, Gonçalves MJ, Cruz MT, Cavaleiro C, Canhoto J, Vaz S, et al. *Lavandula luisieri* essential oil as a source of antifungal drugs. *Food Chemistry*. 2012;135:1505–10.
66. Cabral C, Pita JR, Salgueiro L. *Plantas medicinais: entre o passado e o presente*. Faculdade. Coimbra; 2013. 86 p.
67. Costa P, Gonçalves S, Valentão P, Andrade PB, Romano A. Accumulation of phenolic compounds in in vitro cultures and wild plants of *Lavandula viridis* L'Hér and their antioxidant and anti-cholinesterase potential. *Food and Chemical Toxicology*. 2013;57:69–74.
68. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 1961;7(2):88–95.

69. Coats JR, Karr LL, Drewes CD. Toxicity and Neurotoxic Effects of Monoterpenoids. In: *Naturally Occuring Pest Bioregulators*. Washington: American Chemical Society; 1991. p. 305–16.
70. Soković M, Glamočlija J, Marin PD, Brkić D, Griensven LJLD van. Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model. *Molecules*. 2010;15(11):7533.
71. Pombal S, Rodrigues CF, Araújo JP, Rocha PM, Rodilla JM, Diez D, et al. Antibacterial and antioxidant activity of Portuguese *Lavandula luisieri* (Rozeira) Rivas-Martinez and its relation with their chemical composition. *SpringerPlus*. 2016;5:1–11.
72. Arantes S, Candeias F, Lopes O, Lima M, Pereira M, Tinoco T, et al. Pharmacological and toxicological studies of essential oil of *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri*. *Planta Medica*. 2016;82(14):1266–73.
73. Zuzarte M, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Dinis AM, Canhoto JM, Salgueiro LR. Chemical Composition and Antifungal Activity of the Essential Oils of *Lavandula pedunculata* (Miller) Cav.. *Chemistry and Biodiversity*. 2009;6(8):1283–92.
74. Zuzarte M, Gonçalves MJ, Cavaleiro C, Canhoto J, Vale-Silva L, Silva MJ, et al. Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis* L'Hér.. *Journal of Medical Microbiology*. 2011;60:612–8.
75. Lai B, Teixeira G, Moreira I, Correia AI, Duarte A, Madureira AM. Evaluation of the antimicrobial activity in species of a Portuguese “Montado” ecosystem against multidrug resistant pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2012;6(10):1846–52.
76. Teixeira G, Correia AI, Vasconcelos T, Duarte A, Oliveira N, Madureira AM. *Lavandula stoechas* subsp. *luisieri* and *L. pedunculata*: comparative antibacterial activity. *Journal of Phytotherapy and Pharmacology*. 2012;1:11–5.
77. Nikšić H, Kovač-Bešović E, Makarević E, Durić K, Kusturica J, Muratovic S. Antiproliferative, antimicrobial, and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil. *Journal of Health Sciences*. 2017;7(1):35–43.
78. Fazio A, Cerezuela R, Panuccio MR, Cuesta A, Esteban MÁ. In vitro effects of Italian *Lavandula multifida* L. leaf extracts on gilthead seabream (*Sparus aurata*) leucocytes and SAF-1 cells. *Fish and Shellfish Immunology*. 2017;66:334–44.
79. Sebai H, Selmi S, Rtibi K, Souli A, Gharbi N, Sakly M. Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Lipids in Health and Disease*. 2013;12(189):1–9.
80. Gul S, Nisa NT, Shah TA, Shah MUA, Wani AB. Research output on Lavender, 2008-2012. *European Journal of Integrative Medicine*. 2015;7(5):460–6.