



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Estudo termoanalítico de furanocumarinas de**  
***Brosimum gaudichaudii* Trécul**

**Thaiza Carvalho da Rocha**

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Química.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Inês Gonçalves Leles**

**Goiânia, 2012**

*À minha mãe, que nunca hesitou  
em estar ao meu lado em todos os  
momentos da minha vida.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por ter me concedido a oportunidade de realizar este trabalho;

À minha mãe, Dolôres, minha tia, Lourdes e a toda minha família por estarem sempre ao meu lado e me apoiarem, incondicionalmente;

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Inês Gonçalves Leles por todos os ensinamentos, pelo carinho e pela compreensão;

Ao Prof. Dr. Edemilson Cardoso da Conceição e seus alunos da Faculdade de Farmácia pelos ensinamentos, pelo apoio a este trabalho, pelos conselhos e pelo carinho;

Ao Prof. Dr. Nelson Roberto Antoniosi Filho agradeço também por todos os ensinamentos que levarei por toda a vida;

Agradeço a todos os meus colegas de laboratório, em especial, Carolina Guimarães, Aldo, Kallita, Isabel, Kelly, Aline, Dayane, Pedro que sempre me ajudaram, me apoiaram e fizeram com que meus dias de trabalho fossem mais divertidos;

Aos meus amigos tão queridos que não participaram diretamente da realização deste trabalho mas que contribuíram muito, pois me apoiaram em todos os momentos.

## SUMÁRIO

<i>Lista de Figuras</i> .....	<i>i</i>
<i>Lista de Tabelas</i> .....	<i>iv</i>
<i>Lista de Abreviaturas e Siglas</i> .....	<i>v</i>
<i>Resumo</i> .....	<i>vi</i>
<i>Abstract</i> .....	<i>vii</i>
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
<b><i>Introdução</i></b> .....	<b>1</b>
1.1. O Vitiligo .....	1
1.2. A Terapêutica do Vitiligo .....	2
1.3. Utilização da Análise Térmica no Desenvolvimento de Medicamentos .....	7
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>14</b>
<b><i>Caracterização e estudo térmico das furanocumarinas psoraleno e     bergapteno</i></b> .....	<b>14</b>
2.1. Introdução .....	14
2.2. Objetivos .....	14
2.3. Metodologia .....	15
2.4. Resultados e Discussões .....	15
2.5. Conclusões .....	21
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>22</b>
<b><i>Estudo das interações entre psoraleno e bergapteno com excipientes</i></b> .....	<b>22</b>
3.1. Introdução .....	22
3.2. Objetivos .....	27
3.3. Metodologia .....	27

3.4. Resultados e Discussões .....	28
3.5. Conclusões.....	50
<b>CAPÍTULO 4.....</b>	<b>51</b>
<b><i>Estudo do comportametro térmico do extrato da planta Brosimum gaudichaudii Trécul (MORACEAE).....</i></b>	<b>51</b>
4.1. Introdução .....	51
4.2. Objetivo .....	51
4.3. Metodologia.....	52
4.4. Resultados e Discussões .....	52
4.5. Conclusões.....	55
<b>CAPÍTULO 5.....</b>	<b>56</b>
<b><i>Estudo do perfil termoanalítico do medicamento “A”, comercializado para a terapêutica do vitiligo .....</i></b>	<b>56</b>
5.1. Introdução .....	56
5.2. Objetivo .....	56
5.3. Metodologia.....	57
5.4. Resultados e Discussões .....	57
5.5. Conclusões.....	60
<b>CAPÍTULO 6.....</b>	<b>62</b>
<b><i>Referências Bibliográficas.....</i></b>	<b>62</b>
<b><i>Breve Currículo da Autora .....</i></b>	<b>69</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> Estrutura molecular de (A) furano, (B) cumarina e das furanocumarinas (C) Psoraleno e (D) Bergapteno.....	4
<b>Figura 1.2</b> Esquema ilustrativo para a reatividade de psoralenos [adaptado de Serrano-Andrés, 2008].....	5
<b>Figura 1.3</b> Fotos de folhas, frutos e raízes de <i>Brosimum gaudichaudii</i> Trécul (Moraceae).....	6
<b>Figura 2.1</b> Curvas DSC dos ativos: (A) PS em ar (2,15 mg); (B) PS em N <sub>2</sub> (2,02 mg); (C) BG em ar (2,30 mg); (D) BG em N <sub>2</sub> (2,02 mg); (E) mistura de PS:BG (1:1) (2,46 mg). ....	16
<b>Figura 2.2</b> Curvas TG dos ativos: (A) PS em ar (2,51 mg), (B) PS em N <sub>2</sub> (2,05 mg), (C) BG em ar (2,96 mg), (D) BG em N <sub>2</sub> (2,17 mg) e (E) mistura de PS:BG (2,31 mg) (1:1). ....	16
<b>Figura 2.3</b> Curvas DTG dos ativos: (A) PS em ar; (B) PS em N <sub>2</sub> ; (C) BG em ar; (D) BG em N <sub>2</sub> ; (E) mistura de PS:BG (1:1). ....	17
<b>Figura 2.4</b> Difrátogramas de PS, BG e de PS:BG.....	19
<b>Figura 2.5</b> Espectros FTIR dos compostos: (A) psoraleno, (B) bergapteno e (C) da respectiva mistura. ....	20
<b>Figura 3.1</b> Estrutura química do amido glicolato de sódio.....	23
<b>Figura 3.2</b> Estrutura química do amido. ....	24
<b>Figura 3.3</b> Estrutura química do estearato de magnésio.....	25
<b>Figura 3.4</b> Estrutura química da lactose.....	26
<b>Figura 3.5</b> Curvas DSC comparativas entre (A) AMG (2,20 mg) (B) PS (2,15 mg); (C) PS:AMG (2,45 mg); (D) BG (2,30 mg) e (E) BG:AMG (2,41 mg) em atmosfera de ar sintético.....	29

<b>Figura 3.6</b> Curvas TG de AMG (2,15 mg), PS:AMG (2,39 mg) e BG:AMG (1,97 mg) em atmosfera de ar sintético. ....	30
<b>Figura 3.7</b> Curvas DTG de AMG, PS:AMG e BG:AMG .....	30
<b>Figura 3.8</b> Espectro FTIR do AMG.....	32
<b>Figura 3.9</b> Espectros FTIR dos compostos: (A) AMG, (B) PS, (C) PS:AMG, (D) BG e (E) BG:AMG.....	33
<b>Figura 3.10</b> Curvas DSC comparativas entre (A) AM; (B) PS (2,15 mg); (C) PS:AM (2,50 mg); (D) BG (2,30 mg) e (E) BG:EM (2,56 mg) em atmosfera de ar sintético.....	34
<b>Figura 3.11</b> Curvas TG de AM (2,20 mg), PS:AM (2,46 mg) e BG:AM (1,89 mg) em atmosfera de ar sintético.....	35
<b>Figura 3.12</b> Curvas DTG de AM, PS:AM e BG:AM. ....	35
<b>Figura 3.13</b> Espectros FTIR dos compostos: (A) AM, (B) PS, (C) PS:AM, (D) BG e (E) BG:AM. ....	37
<b>Figura 3.14</b> Curvas DSC comparativas entre (A) PS (2,15 mg); (B) PS:EM (2,15 mg); (C) EM (2,68 mg); (D) BG (2,30 mg) e (E) BG:EM (2,25 mg) em atmosfera de ar sintético.....	39
<b>Figura 3.15</b> Curvas TG de PS:EM (1,87 mg), EM (2,43 mg) e BG:EM (1,79 mg) em atmosfera de ar sintético.....	39
<b>Figura 3.16</b> Curvas DTG de EM, PS:EM e BG:EM. ....	40
<b>Figura 3.17</b> Espectros FTIR dos compostos: (A) EM, (B) PS, (C) PS:EM, (D) BG e (E) BG:EM. ....	41
<b>Figura 3.18</b> Curvas DSC comparativas entre (A) LC (2,53 mg); (B) PS (2,15 mg); (C)PS:LC (2,58 mg); (D) BG (2,30 mg) e (E) BG:LC (2,10 mg) em atmosfera de ar sintético.....	43
<b>Figura 3.19</b> Curvas TG de LC (2,27 mg), PS:LC (2,80 mg) e BG:LC (2,80 mg) em atmosfera de ar sintético.....	43
<b>Figura 3.20</b> Curvas DTG de PS:LC, LC e BG:LC.....	44
<b>Figura 3.21</b> Espectros FTIR dos compostos: (A) LC, (B) PS, (C) PS:LC, (D) BG e (E) BG:LC. ....	46
<b>Figura 3.22</b> Curvas DSC comparativas entre (A) TC (2,20 mg); (B) PS; (C) PS:TC (2,13 mg); (D) BG e (E) BG:TC (2,10 mg) em atmosfera de ar sintético.....	47
<b>Figura 3.23</b> Curvas TG de TC (2,70 mg), PS:TC (2,33 mg) e BG:TC (1,97mg) em atmosfera de ar sintético.....	48

<b>Figura 3.24</b> Curvas DTG de TC, PS:TC e BG:TC.....	48
<b>Figura 3.25</b> Espectros FTIR dos compostos: (A) TC, (B) PS, (C) PS:TC, (D) BG e (E) BG:TC.....	49
<b>Figura 4.1</b> Curvas TG e DTG do extrato de <i>B. gaudichaudii</i> Trécul (Moraceae)(3,00 mg).....	53
<b>Figura 4.2</b> Curvas DSC de: (A) EP (2,90 mg); (B) mistura EP:PS (2:1) (2,96 mg); (C) mistura EP:BG (2:1) (3,02 mg); (D) mistura EP:PS:BG (1:1:1) (2,94 mg) e (E) mistura EP:PS:BG (1:1:2). .....	54
<b>Figura 5.1</b> Curvas TG e DTG do Med A (3,16 mg).....	57
<b>Figura 5.2</b> Curvas DSC comparativas entre (A) PS; (B) BG; (C) mistura de padrões PS:BG, (D) Med A (3,20 mg); (E) mistura de Med A:PS (2,98 mg); (F) mistura de Med A:BG (3,04 mg); (G) mistura de Med A:PS:BG (3,01 mg); (H) LC; (I) mistura de Med A:LC (2,97 mg). .....	58
<b>Figura 5.3</b> Curva DSC da mistura dos componentes citados na bula do Med A nas mesmas proporções de fabricação.....	60

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 2.1</b> Dados termoanalíticos de PS, BG e da mistura binária PS:BG..	18
<b>Tabela 3.1</b> Dados termoanalíticos de AMG e suas misturas binárias com PS e BG.....	32
<b>Tabela 3.2</b> Dados termoanalíticos de AM e suas misturas binárias com PS e BG.....	37
<b>Tabela 3.3</b> Dados termoanalíticos de EM e suas misturas binárias com PS e BG.....	41
<b>Tabela 3.4</b> Dados termoanalíticos de LC e suas misturas binárias com PS e BG.....	45
<b>Tabela 3.5</b> Dados termoanalíticos das misturas binárias com PS:TC e BG:TC.....	49

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<b>AM</b>	Amido de Milho
<b>AMG</b>	Amido Glicolato de sódio
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>BG</b>	Bergapteno
<b>DRX</b>	Difração de Raios X
<b>DSC</b>	“Differential Scanning Calorimetry” Calorimetria Exploratória Diferencial
<b>DTG</b>	Termogravimetria Derivada
<b>EM</b>	Estearato de Magnésio
<b>EP</b>	Extrato de Planta
<b>FT IR</b>	Infravermelho com Transformada de Fourier
<b>LC</b>	Lactose
<b>Med A</b>	Medicamento A
<b>PS</b>	Psoraleno
<b>PUVA</b>	Psoralenos administrados com radiação ultravioleta
<b>RDC</b>	Resolução da Diretoria Colegiada
<b>TC</b>	Talco
<b>TG</b>	Termogravimetria
<b><math>\Delta H_F</math></b>	Entalpia de Fusão
<b><math>\Delta H_m, F</math></b>	Entalpia molar de Fusão
<b><math>\Delta m</math></b>	Variação de massa

## RESUMO

As técnicas de análise térmica tem se mostrado muito úteis no estudo de pré-formulações visto que consiste em técnicas que apresentam resultados rápidos e seguros. Neste trabalho foram avaliados os perfis termoanalíticos do psoraleno e bergapteno, compostos utilizados no tratamento de vitiligo, e suas interações com excipientes. Avaliou-se também o perfil térmico do extrato da planta *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) e de um medicamento contendo o mesmo extrato. Os resultados mostraram que psoraleno e bergapteno são substâncias que possuem decomposição em apenas uma etapa e apresentam fusão em 162 e 190 °C, respectivamente. Os compostos psoraleno e bergapteno interagem entre si, mas os resultados através de DRX deixam claro que as estruturas cristalinas dos compostos não são afetadas por essas interações. Além disso, os resultados obtidos com a análise térmica evidenciam que não ocorreu nenhuma interação destes compostos com os excipientes em estudo. Todos os resultados foram confirmados por FT-IR, utilizada como técnica complementar. O extrato da planta mostrou um evento endotérmico que pode ser atribuído à fusão dos ativos presentes. O perfil da curva DSC do medicamento comercial possibilitou a detecção da lactose em sua composição, cuja presença não consta na bula do medicamento.

## **ABSTRACT**

Thermal analysis techniques have been very useful to study the pre-formulations since it consists in techniques that can provide quick and reliable results. This study evaluated the thermoanalytical profiles of psoralen and bergapten, compounds used in the treatment of vitiligo, and their interactions with excipients. We also evaluated the thermal profile of the plant extract *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) and a medicine containing the same extract. The results showed that psoralen and bergapten are substances with decomposition and have only one melting step at 162 ° C and 190 respectively. The compounds psoralen and bergapten interact with each other, but the results by XRD clearly show that the crystal structures of the compounds are not affected by these interactions. Furthermore, the results of thermal analysis showed that there was no interaction with the excipients of these compounds under study. All results were confirmed by FT-IR, used as a complementary technique. The plant extract showed an endothermic event which can be attributed to the fusion of these assets. The DSC curve profile of the drug trade allowed the detection of lactose in their composition, whose presence is not included in the package leaflet.

# CAPÍTULO 1

## INTRODUÇÃO

### 1.1. O Vitiligo

O vitiligo é uma doença do grupo das leucodermias, que se caracteriza pela despigmentação da pele, mucosa, bulbo capilar e olhos devido à perda crônica e progressiva dos melanócitos que são as células responsáveis pela produção de melanina (Cário-André *et al.*, 2007; Ali *et al.*, 2010).

A palavra vitiligo é de origem latina e vem de *vitium*, que significa defeito e de *vitelium*, que significa manchas brancas. Os primeiros registros que trazem essa palavra datam do primeiro século d. C. quando um físico romano chamado Celsus publicou um livro intitulado “De Medicina” (Kovacs, 1998).

Porém a doença é citada em muitos escritos bem mais antigos de aproximadamente 1500 a 1000 a. C. como, por exemplo, na literatura indiana são usadas as palavras *kilas* e *palita*, para se referirem a manchas brancas na pele. No livro sagrado do Budismo (624-544 a. C.) pessoas que sofriam de *kilas* não podiam ser ordenadas. Além disso, há citações no Alcorão de pessoas com *baras*, e no livro sagrado indiano *Manusmriti* há pessoas com *svitra*, ambas significam manchas brancas na pele (Fitzpatrick *et al.*, 1958; Kovacs, 1998).

O vitiligo atinge cerca de 1 a 2 % da população mundial e ainda não se sabe exatamente o que causa a doença, de modo que, ocorre algumas

vezes em pessoas da mesma família, o que significa que um fator genético possa estar envolvido. Entretanto, várias teorias tem sido propostas para explicar o processo de despigmentação ocorrido no vitiligo (Steiner *et al.*, 2004; Ali *et al.*, 2010).

Dentre elas pode-se citar a Teoria Autocitotóxica que considera que os melanócitos são destruídos por substâncias liberadas em seu próprio metabolismo ou de células localizadas próximas, de modo que, esses produtos tóxicos também limitam a proliferação dos melanócitos (Steiner *et al.*, 2004).

Há também a teoria que considera que o vitiligo é uma doença Autoimune. Esta teoria foi proposta quando Naughton e colaboradores (1998) demonstraram que há a presença de anticorpos contra melanócitos no sangue de pacientes com vitiligo e também pelo fato de pessoas com vitiligo apresentarem alta incidência de doenças como diabetes, doenças de tireóide e anemia. Outra importante teoria para explicar o surgimento do vitiligo é a chamada Teoria Neurogênica que foi proposta quando foram comprovadas alterações nos terminais nervosos das regiões atingidas por vitiligo (Kovacs, 1998; Steiner *et al.*, 2004; Ali *et al.*, 2010).

Em geral, o vitiligo se manifesta ainda na infância ou em adultos jovens. Cerca da metade das pessoas com vitiligo adquiriram a doença antes dos 20 anos e a incidência da doença decresce com o aumento da idade (Cunha *et al.*, 2005; Ali *et al.*, 2010).

## **1.2. A Terapêutica do Vitiligo**

### ***1.2.1. Aplicação de corticosteroides e Método cirúrgico***

Uma vez que a causa do vitiligo ainda não está elucidada, o tratamento para esta doença consiste em um grande desafio.

Pelo fato de se tratar de um tratamento de baixo custo e de fácil seguimento, a aplicação de cremes contendo corticosteroides consiste na primeira linha de tratamento adotada tanto para crianças quanto para adultos

com vitiligo. Os cremes geralmente são aplicados duas vezes ao dia e os resultados monitorados no período de três a seis meses.

Kwinter e colaboradores (2007) avaliaram a potencialidade deste tratamento em crianças e observaram que 64% dos pacientes tiveram a repigmentação completa da pele. Porém 26% apresentaram algum tipo de efeito colateral como, por exemplo, danos na pele ou glaucoma, quando tiveram os cremes aplicados em regiões próximas aos olhos. Os outros 10% apresentaram-se em um estado pior do que o estado antes do tratamento.

A eficácia do tratamento através da administração local de corticosteroides também foi estudada por Kandil (1970) e os resultados mostraram que as lesões da face foram as que melhor responderam a este tratamento. Além disso, os pacientes com a pele escura apresentaram melhor resposta do que os pacientes de pele clara.

Quando os pacientes não respondem a nenhum tipo de tratamento clínico submetem-se então a tratamentos cirúrgicos que são, em grande parte, bem-sucedidos. Eles consistem em perfurar a pele e enxertar ou transplantar pele normal no local e induzir a pigmentação para que, desta região, a pigmentação se espalhe. Porém, estes tratamentos apresentam a possibilidade de causar lesões na pele e em regiões expostas como a face, este tipo de tratamento é pouco aceito (Steiner *et al.*, 2004; Ali *et al.*, 2010).

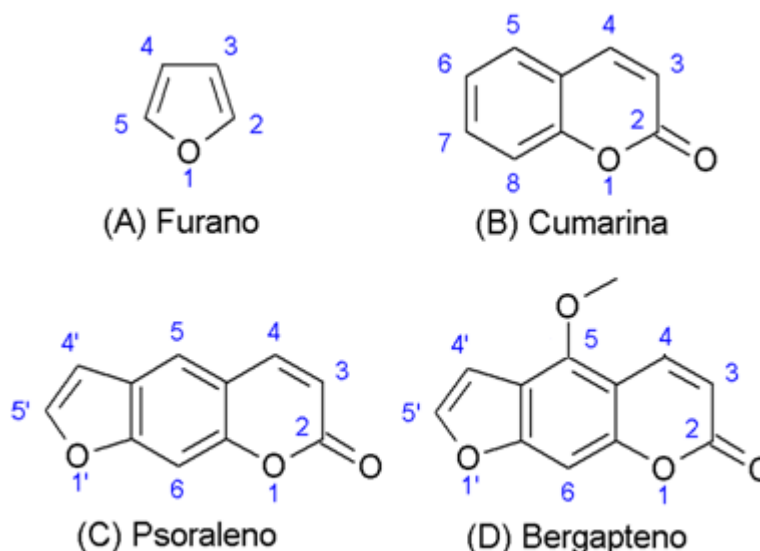
### ***1.2.2. Método PUVA e Características das Furanocumarinas***

Outra linha de tratamento muito aceita e eficaz para induzir a repigmentação da pele é através da administração oral ou tópica de substâncias conhecidas como furanocumarinas ou psoralenos, combinadas à exposição do paciente à luz solar ou à luz ultravioleta artificial, método de fotoquimioterapia denominado PUVA (Anbar *et al.*, 2012).

Pesquisas nos últimos anos tem mostrado que o método PUVA, em relação a outras formas de tratamento para o vitiligo e outras doenças da pele como psoríase (erupções na pele), tem sido o que apresenta menor percentual de efeitos colaterais e maior eficácia (Smith *et al.*, 2011). Estudos feitos por Anbar e colaboradores (2012) mostraram que o tratamento PUVA

fez com que se aumentasse o número e a atividade dos melanócitos e queratinócitos em todas as áreas lesionadas. Além disso, o tratamento diminuiu as atividades degenerativas em ambas as células.

As furanocumarinas ou psoralenos são compostos aromáticos tricíclicos em que a ligação  $-(C2=C3)-$  do grupo furano é fundida com ligação  $-(C6=C7)-$  da porção bicíclica da cumarina (Figura 1.1) (Nakagaki *et al.*, 2005).



**Figura 1.1** Estrutura molecular de (A) furano, (B) cumarina e das furanocumarinas (C) Psoraleno e (D) Bergapteno.

O uso de furanocumarinas para o tratamento de doenças da pele é muito antigo. Pesquisas mostram que no Egito Antigo já se utilizavam extratos de uma planta encontrada no vale do Nilo chamada *Ammi Majus*, constituídos por furanocumarinas. As pesquisas com estas substâncias se intensificaram em 1941 na Universidade do Cairo, Egito onde um grupo de pesquisadores conseguiu obter um pó da planta encontrada no vale do Nilo que era ingerido com subsequente exposição ao sol, para a cura de leucodermas (Fitzpatrick *et al.*, 1958; Nakagaki *et al.*, 2005).

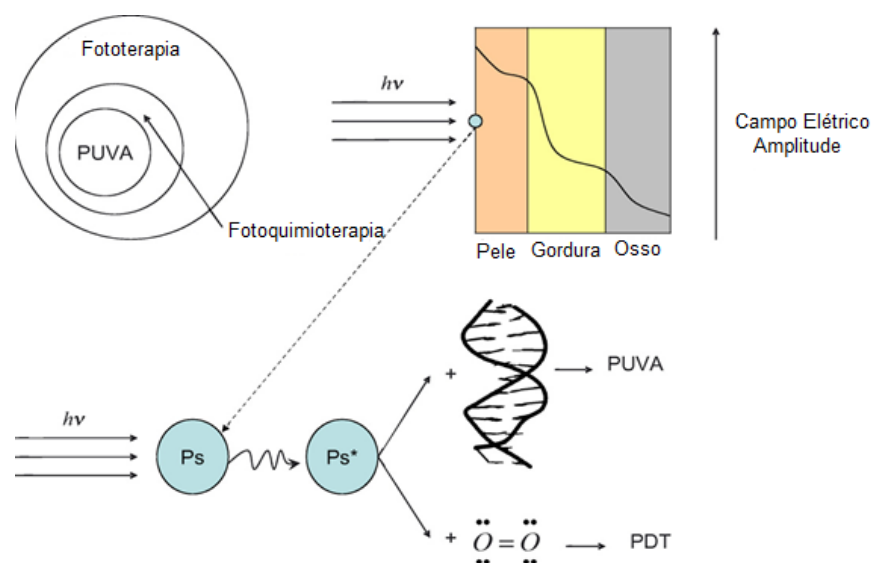
Certamente, no Egito Antigo não se sabia por que a ingestão de extratos de *Ammi Majus* combinada à luz solar era um tratamento efetivo para as doenças de manchas na pele. Porém, com o passar do tempo houve altíssimo desenvolvimento na área de espectroscopia, química quântica,

biologia o que possibilitou chegar-se a explicações para a capacidade terapêutica dos compostos furanocumarínicos.

Estudos feitos através de microscopia de fluorescência em meio aquoso foram úteis para se obter explicações para a capacidade fotossensibilizante das furanocumarinas (Serrano-Andrés *et al.*, 2009).

Como ilustrado no esquema da Figura 1.2, as furanocumarinas, quando absorvem os fótons da fonte de luz, seus elétrons passam a um estado excitado. Essas moléculas no estado excitado encontram no ambiente celular diversos substratos, como o oxigênio das células e ácidos nucleicos. O agente fotossensibilizador, no caso os psoralenos, ao retornar ao estado fundamental, transfere energia ao substrato dando origem a espécies altamente reativas (Serrano-Andrés *et al.*, 2008; Segundo, 2007).

Quando os substratos são oxigênicos, as espécies formadas são oxigênios singletos, tripletos e outros radicais livres que atacam células cancerígenas, o que consiste no princípio da terapia fotodinâmica (PDT). Quando os substratos são ácidos nucleicos forma-se fotoadutos que estimulam a atividade dos melanócitos existentes e também à produção de novos melanócitos o que, conseqüentemente, facilita a repigmentação da pele (PUVA) (Segundo, 2007; Serrano-Andrés *et al.*, 2008; Serrano-Andrés *et al.*, 2009).



**Figura 1.2** Esquema ilustrativo para a reatividade de psoralenos [adaptado de Serrano-Andrés, 2008].

As furanocumarinas podem ser sintetizadas em laboratório, inclusive tem-se estudado formas de síntese desses compostos com modificações na estrutura para se reduzir ainda mais os efeitos colaterais no tratamento PUVA. O método consiste em sintetizar moléculas com apenas uma das extremidades reativas (ou do anel furano ou do anel da cumarina) para evitar a formação de diadutos com as moléculas do DNA, responsáveis pelos efeitos colaterais (Traven, 2004; Ranganath *et al*, 2011).

No entanto, as furanocumarinas podem ser encontradas em algumas plantas das famílias Umbelliferae, Rutaceae e Moraceae como metabólitos secundários. A principal planta brasileira que contém furanocumarinas é a *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) (Figura 1.3), que é um arbusto que pode atingir até 4 metros de altura, conhecida popularmente por “mama-cadela”, “algodão do campo”, “amoreira do mato” características de regiões do Bioma Cerrado (Vilegas *et al.*, 1993; Pozetti, 2005; Cunha *et al.*, 2008).



**Figura 1.3** Fotos de folhas, frutos e raízes de *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae).

Revisão feita por Pozetti (2005) mostrou que a raiz da planta *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) é a parte que contém maior concentração de substâncias de importância farmacológica e terapêutica dentre as quais se destacam as furanocumarinas psoraleno e bergapteno

(Figura 1.1), podendo se encontrar também outras furanocumarinas como umbeliferona e (2S, 3R)-3-Bidroximarmesina.

Portanto, tem-se o medicamento fitoterápico, de administração oral, já que é a forma mais acessível e que apresenta menos efeitos colaterais, que é produzido utilizando-se o extrato da raiz da planta *B. gaudichaudii* Trécul (Moraceae).

### **1.3. Utilização da Análise Térmica no Desenvolvimento de Medicamentos**

#### ***1.3.1. Análise Térmica***

De acordo com a ICTAC (*International Confederation for Thermal Analysis and Calorimetry*) define-se Análise Térmica como o conjunto de técnicas onde as propriedades físicas de uma substância e/ou produtos de reação são medidos como função da temperatura e/ou tempo enquanto estes são controlados.

Em geral, nos sistemas termoanalíticos a amostra é colocada em um ambiente cuja temperatura é controlada por um dispositivo programador e suas alterações são monitoradas através de um transdutor adequado que produz o sinal elétrico de saída análogo à transformação ocorrida. Assim, dependendo do transdutor tem-se equipamentos termoanalíticos diferentes e que, claro, medem propriedades diferentes. Dentre as técnicas de Análise Térmica mais utilizadas estão a Termogravimetria (TG), a Análise Térmica Diferencial (DTA) e a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (Haines, 1995).

A Termogravimetria (TG) consiste na medida da variação da massa da amostra em função do tempo e/ou da temperatura. Neste sistema o transdutor é uma termobalança que permite a pesagem contínua da amostra enquanto esta é aquecida ou resfriada. A análise é útil para se conhecer a estabilidade térmica das amostras de modo que se pode estabelecer a faixa de temperatura em que esta começa a se decompor e também para se analisar o andamento de reações de desidratação, oxidação, para se

estabelecer estequiometria de compostos através da análise dos percentuais de perda de massa e também para a determinação do teor de formulações (Wendlandt, 1986; Haines, 1995; Ionashiro, 2005).

A Termogravimetria Derivada (DTG) é um método cujas curvas obtidas correspondem à primeira derivada da curva TG. Na DTG os degraus (intervalos de perda de massa) são substituídos por picos apresentando assim as informações de temperatura de uma forma que é visualmente mais acessível. Além disso, as respectivas áreas dos picos são proporcionais às alterações de massa pela qual passa a amostra, apresenta as informações de uma forma que é visualmente mais acessível (Ionashiro, 2005).

A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é a técnica pela qual se mede a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência, termicamente inerte, em função da temperatura, enquanto a substância e a referência são submetidas a um programa controlado de temperatura em um calorímetro. Na técnica DSC com fluxo de calor, o transdutor consiste em um conjunto de termopares, localizados em um sensor calorimétrico, capaz de registrar quaisquer mudanças de energia pela qual passar a amostra. Assim, é possível acompanhar transformações físicas ou químicas como, por exemplo, transições de fase (fusão, ebulição, sublimação, congelamento, mudanças de estrutura cristalina) ou reações de desidratação, decomposição entre outras (Wendlandt, 1986; Ionashiro, 2005).

### ***1.3.2. Desenvolvimento de Medicamentos***

A produção de um medicamento até que este chegue a um produto comercial passa por inúmeras etapas. A etapa de pré-formulação é a fase do desenvolvimento farmacêutico em que são avaliadas as características físicas e químicas do fármaco, como solubilidade, estabilidade, bem como o comportamento do fármaco frente a excipientes que poderão ou não ser utilizados como componentes da formulação (Bernardi *et al.*, 2009; Maximiano *et al.*, 2010).

A grande variedade de excipientes, bem como a reatividade de alguns compostos utilizados com essa finalidade, aumenta a importância deste estudo, pois como se sabe os excipientes ou adjuvantes possuem papel de suma importância na segurança, eficácia e estabilidade das formas farmacêuticas (Pifferi *et al.*, 1999)

Neste contexto, os fenômenos que podem ser observados com o aquecimento fazem com que as técnicas de Análise Térmica sejam uma importante ferramenta para investigação e previsão de qualquer interação físico-química entre os componentes de uma pré-formulação, para avaliar a existência de possíveis incompatibilidades entre um ativo e os adjuvantes durante o processamento ou armazenamento do medicamento (Oliveira *et al.*, 2010). Ensaio utilizando-se os métodos termoanalíticos deveriam ser os primeiros a serem realizados, pois assim se evitaria uma série de possíveis problemas quando o desenvolvimento da formulação já estiver em um estágio mais avançado.

Além disso, é possível detectar a presença de formas polimórficas diferentes, uma vez que as transformações de fase cristalina ocorrem com variação de energia e podem ser avaliadas por DSC, juntamente com Difração de Raios X. Este estudo é muito importante porque muitos medicamentos perdem a sua eficiência com o passar do tempo devido à ocorrência de transformações de fase durante o processamento, pois estruturas cristalinas diferentes apresentam propriedades físicas e químicas diferentes e, conseqüentemente diferente atuação em meio biológico (Giron, 2002; Shete *et al.*, 2010).

No que diz respeito à escolha de excipientes utiliza-se a avaliação de misturas binárias entre o fármaco e os excipientes passíveis de serem empregados na obtenção de uma determinada forma farmacêutica, que são submetidas então a análises térmicas, como TG, DSC ou também a métodos cromatográficos ou espectrofotométricos (Bharate *et al.*, 2010).

As misturas binárias na proporção 1:1 (m/m) são as preferencialmente utilizadas para as análises visto que muitos estudos foram feitos nessa área e os autores verificaram que é nesta proporção que as

interações são maximizadas e assim, o estudo apresenta resultados que são mais seguros (Giron, 1998; Clas *et al.*, 1999; Sims *et al.*, 2003).

Portanto, as análises são realizadas e avalia-se o comportamento térmico do fármaco e de cada excipiente, individualmente. Em seguida, realiza-se o estudo das misturas. Quaisquer mudanças na identidade do fármaco frente ao excipiente podem ser consideradas como incompatibilidade. No entanto, quando se tem uma mistura com características que nada mais são do que a soma das características dos compostos individuais, afirma-se que os compostos não apresentam incompatibilidades e podem ser administrados numa mesma formulação (Giron, 1998; Souza *et al.*, 2003).

Pereira e colaboradores (2007) realizaram o estudo termoanalítico do Atenolol e de alguns medicamentos comerciais contendo esta droga através de TG e DSC. Foram avaliados alguns excipientes e de acordo com os perfis das curvas das misturas binárias foi possível concluir que o Atenolol e o excipiente manitol apresentaram interações. Isso foi evidenciado pelo deslocamento do pico de fusão do Atenolol na mistura que foi cerca de 13 °C menor do que a temperatura do pico de fusão da droga pura. Este comportamento também foi observado no medicamento comercial que contém manitol.

Peres-Filho e colaboradores (2011) fizeram a investigação da compatibilidade da olanzapina, utilizada no tratamento de esquizofrenia e transtorno bipolar, com excipientes comuns em formulações orais utilizando TG e DSC. Os resultados deixaram clara a interação entre o fármaco e os excipientes estearato de magnésio, lactose e polivinilpirrolidona (PVP). Análises realizadas por Difração de Raios X confirmaram que ocorreram mudanças na estrutura cristalina do fármaco após a mistura.

Shete e colaboradores (2010) utilizaram TG e DSC para caracterizar amostras cristalinas e amorfas de atorvastatina cálcica, utilizada no tratamento de colesterol. As amostras cristalinas também foram caracterizadas por Difração de Raios X. A partir destes estudos foi possível concluir a partir dos perfis termoanalíticos bem como dos resultados de DRX que a atorvastatina pode ser encontrada em seis diferentes formas

polimórficas e seis formas amorfas. O perfil térmico da forma polimórfica 1 tri hidratada variou com a razão de aquecimento, indicando a natureza cinética da desidratação.

Salgado e colaboradores (2005) estudaram o comportamento térmico do esparfloxacino, um poderoso fármaco utilizado no tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e outros microrganismos pouco sensíveis a muitos fármacos. O esparfloxacino mostrou que a amostra em análise apresentava perfil bem semelhante à amostra referência, o que comprova a autenticidade da amostra. Amostras comerciais também foram avaliadas e através da curva DSC foi possível identificar o esparfloxacino na formulação através da faixa de fusão característica.

Bruni e colaboradores (2010) fizeram o estudo de compatibilidade fármaco-excipiente de haloperidol, agente antipsicótico, com excipientes, através de misturas binárias e ternárias, utilizando-se TG, DSC, DRX e espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR). Os resultados mostraram forte interação entre haloperidol e o excipiente PVP e também que dentre as técnicas selecionadas a DSC foi a que apresentou maior sensibilidade na identificação desta interação.

O método de amorfização de fármacos consiste em um processo atualmente muito utilizado na indústria farmacêutica, uma vez que alguns fármacos quando se encontram amorfos apresentam maior atividade biológica. O sucesso da amorfização de fármacos com estruturas cristalinas foi estudado por Orsolya Jójárt-Laczkovich e Piroška Szabó-Révész (2010). Metanol e etanol foram utilizados como solventes que foram posteriormente evaporados e os sólidos foram analisados por DSC, DRX e FT-IR. De acordo com os resultados o processo foi bem sucedido, de modo que foi possível avaliar a transição vítrea dos sólidos obtidos, porém a recristalização completa ocorreu após 30 dias.

Procópio e colaboradores (2011) utilizaram TG acoplada a um equipamento de Cromatografia Gasosa com Espectrômetro de Massas (GC-MS) para caracterizar os produtos da pirólise de amostras de simvastatina. Com isso, foi possível caracterizar dois intermediários de decomposição.

### ***1.3.3. Medicamentos Fitoterápicos***

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define-se como fitoterápico todos os medicamentos que apresentam ativos obtidos a partir do processamento de plantas medicinais, onde se utiliza exclusivamente derivados de drogas vegetais.

Os medicamentos fitoterápicos também passam por um rigoroso controle de qualidade e devem ser registrados na ANVISA de acordo com a RDC 14/2010, que prevê diferentes formas de se comprovar a segurança e a eficácia dos medicamentos fitoterápicos. Para o controle de qualidade, é necessário que os medicamentos estejam padronizados. Além disso, de acordo com a legislação brasileira, é preciso que seja comprovada sua eficácia e que constem informações a respeito de possíveis riscos à saúde. Embora ainda necessite de investimentos, o Brasil apresenta alta potencialidade no desenvolvimento de fitoterápicos devido à imensa biodiversidade.

Muitos estudos tem sido realizados a respeito da utilização de Análise Térmica como uma ferramenta para o controle de qualidade de fitoterápicos e de matérias-primas de origem vegetal (Litwinienko *et al.*, 1999; Pomerantsev *et al.*, 2005).

Giuffrida e colaboradores (2006) utilizaram DSC, juntamente com outras técnicas para avaliar a estabilidade oxidativa e atividade de quatro amostras de óleos vegetais. Foram utilizados métodos isotérmicos e o tempo de indução foi determinado a partir do início da formação do pico correspondente à reação de oxidação. Simon e colaboradores (2005) também fizeram estudo da atividade antioxidante de p-fenilenediaminas em matrizes poliméricas por DSC.

Varshney e colaboradores (2004) utilizaram TG e DSC para estudar o comportamento térmico de medicamentos fitoterápicos indianos irradiados com radiação gama. Os resultados mostraram que o perfil térmico, acima de 200 °C, dos medicamentos irradiados era consideravelmente diferente daqueles não irradiados, o que pode estar ligado a reações de oxidação parcial dos produtos que ocorrem durante o processo de irradiação.

Macedo e colaboradores (2002) também utilizaram as técnicas de análise térmica para avaliar a qualidade de extratos de *Cissampelos sympodialis* Elich (Menispermaceae) e concluíram que a termogravimetria consiste em um método simples e seguro que poderia ser utilizado como um ensaio de rotina para controle de qualidade dos extratos de milona.

Costa e colaboradores (2011) estudaram o comportamento térmico do extrato liofilizado de *Heliotropium indicum* L., que é uma planta de origem indiana, mas adaptada em solo brasileiro e que apresenta propriedades anti-inflamatórias. As técnicas TG e DSC foram utilizadas para estudar o comportamento do extrato puro bem como das misturas do extrato com alguns adjuvantes farmacêuticos. Os estudos revelaram boa estabilidade do extrato e das misturas até 150 °C. Dentre os excipientes estudados, o propileno-glicol demonstrou incompatibilidade.

## **CAPÍTULO 2**

### **CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO TÉRMICO DAS FURANOCUMARINAS PSORALENO E BERGAPTENO**

#### **2.1. Introdução**

As furanocumarinas são compostos aromáticos que apresentam alta potencialidade de utilização em fototerapia, uma das mais importantes técnicas para o tratamento de doenças de pele, devido à capacidade fotossensibilizante característica dessas moléculas (Serrano-Andrés *et al.*, 2008).

Visto que as furanocumarinas apresentam alta aplicabilidade na área médica é de suma importância que seja elucidado seu comportamento térmico, de modo que possa se fazer conexões entre os conhecimentos de física, química e medicina e assim chegar a um tratamento cada vez mais eficaz.

#### **2.2. Objetivos**

Em decorrência de não se encontrar informações a respeito do comportamento térmico de furanocumarinas na literatura fez-se este estudo com as furanocumarinas psoraleno e bergapteno utilizando-se TG e DSC. Além disso, os compostos foram caracterizados por Difração de Raios X (DRX) e espectroscopia na região do infravermelho (FT-IR).

### 2.3. Metodologia

Foram utilizados padrões dos ativos Psoraleno (PS) e Bergapteno (BG) (Sigma) e para verificar a existência de interações entre eles fez-se a mistura 1:1 dos padrões.

As análises termogravimétricas (TG/DTG) foram realizadas em um equipamento TGA/SDTA modelo 851<sup>e</sup> Mettler Toledo de 25 a 600°C, em cadinhos de  $\alpha$ -alumina de 70  $\mu$ L. As análises DSC foram obtidas em um equipamento modelo 822<sup>e</sup> da Mettler Toledo de 25 a 300 °C, em cadinhos de alumínio de 40  $\mu$ L. Ambas, foram realizadas a 10 °C.min<sup>-1</sup>, em atmosfera de nitrogênio e ar sintético para os padrões psoraleno e bergapteno e em ar para a mistura, com fluxo de 50 mL.min<sup>-1</sup> e massa de amostra de aproximadamente 2 mg.

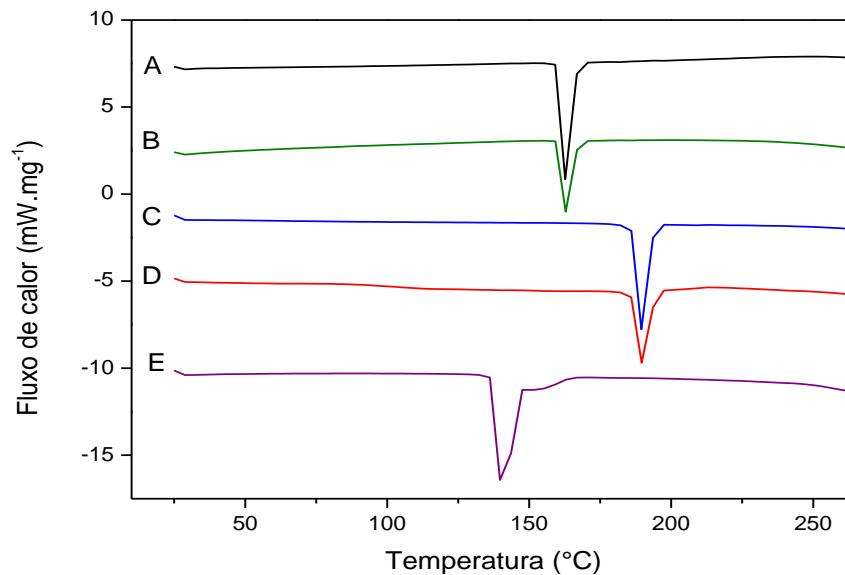
Os compostos foram caracterizados quanto à estrutura cristalina por difração de raios X pelo método de pó, em um difratômetro de raios X da marca SHIMADZU modelo DRX 6000. Os difratogramas foram obtidos com amostras suportadas em placa anti-reflexivo, utilizando-se radiação CuK $\alpha$  ( $\lambda=1,54056$  Å), 40 kV e 30 mA, com  $2\theta$  entre 10 e 80 graus.

Os espectros das amostras na região do infravermelho de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup> foram obtidos em um espectrômetro FTIR Bomem, série MB100, com acessório de refletância difusa do tipo Colletor e microsuporte de 3 mm de diâmetro. As amostras foram diluídas em KBr (1%) e os espectros foram obtidos usando 120 varreduras e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>. A radiação de fundo foi obtida com KBr.

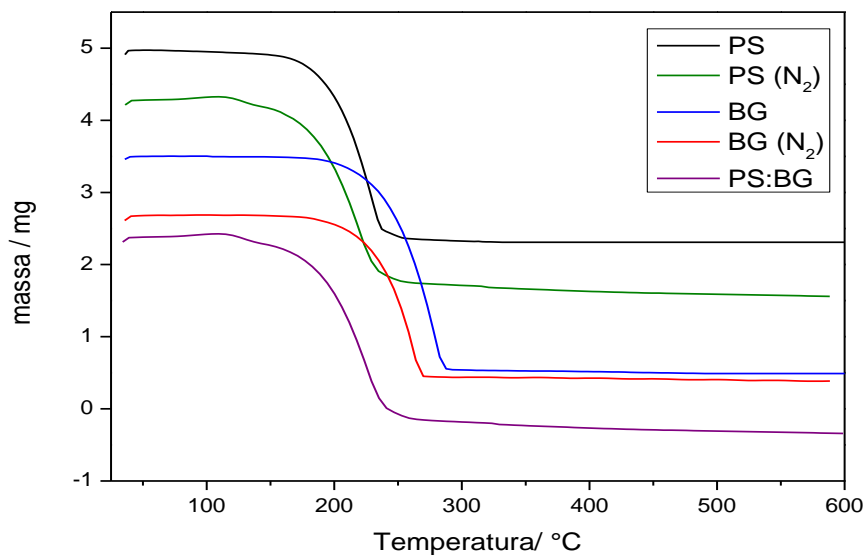
### 2.4. Resultados e Discussões

Como pode se observar pelas curvas DSC (Figura 2.1), tanto em atmosfera de N<sub>2</sub> quanto em ar sintético, o psoraleno e o bergapteno apresentam fusão em 162 °C e em 190 °C, respectivamente. As temperaturas de fusão foram determinadas pelo Método Onset. Isso é evidenciado pelo pico endotérmico fino e bem definido encontrado em cada

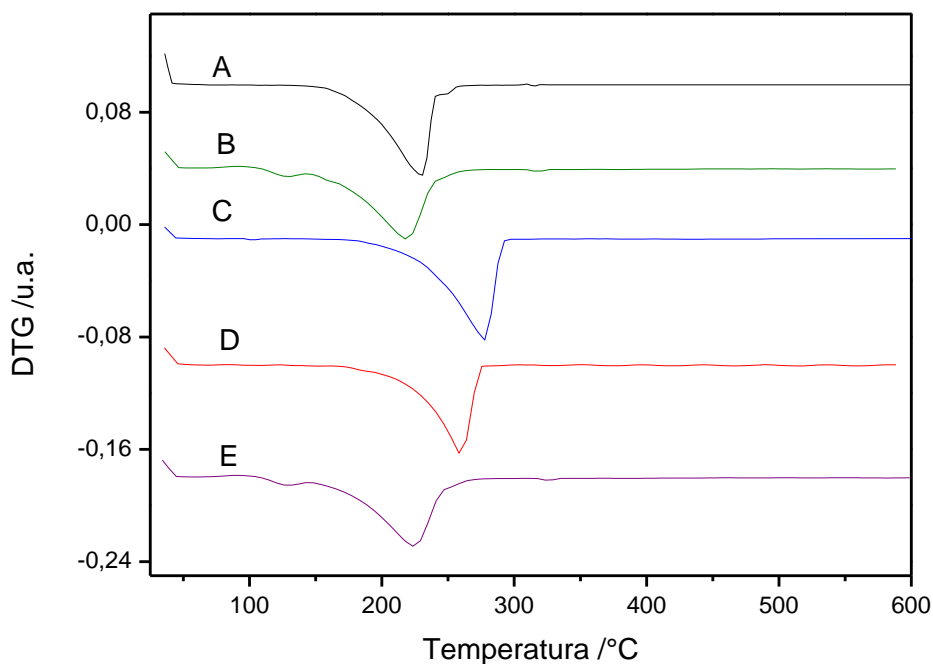
curva. As temperaturas encontradas para a fusão dos compostos estão de acordo com as descritas na literatura (Tirreux *et al.*, 1995).



**Figura 2.1** Curvas DSC dos ativos: (A) PS em ar (2,15 mg); (B) PS em N<sub>2</sub> (2,02 mg); (C) BG em ar (2,30 mg); (D) BG em N<sub>2</sub> (2,02 mg); (E) mistura de PS:BG (1:1) (2,46 mg) em ar.



**Figura 2.2** Curvas TG dos ativos: (A) PS em ar (2,51 mg), (B) PS em N<sub>2</sub> (2,05 mg), (C) BG em ar (2,96 mg), (D) BG em N<sub>2</sub> (2,17 mg) e (E) mistura de PS:BG (2,31 mg) (1:1) em ar.



**Figura 2.3** Curvas DTG dos ativos: (A) PS em ar; (B) PS em N<sub>2</sub>; (C) BG em ar; (D) BG em N<sub>2</sub>; (E) mistura de PS:BG (1:1).

As curvas TG e DTG (Figuras 2.2 e 2.3) mostram que decomposição dos compostos ocorre em uma etapa entre 170 e 250 °C para o psoraleno e entre 200 e 280 °C para o bergapteno. Portanto tem-se, tanto para o psoraleno quanto para o bergapteno, fusão seguida de decomposição.

A mudança de atmosfera não alterou significativamente o perfil das curvas TG e DSC, já que não ocorrem reações entre os compostos e a atmosfera de forno (Wendlandt, 1986; Haines, 1995). Entretanto, a curva TG do psoraleno em N<sub>2</sub> apresentou um perfil levemente diferente em relação à curva realizada em atmosfera de ar sintético, de modo que a respectiva curva DTG em N<sub>2</sub> (Figura 2.3B) mostra que a reação de decomposição ocorre em duas etapas, sendo a primeira etapa, próxima de 140 °C, uma etapa lenta.

Quando se faz a mistura dos padrões observa-se na curva DSC apenas um pico endotérmico, correspondente à fusão da mistura, que ocorre em torno de 140 °C ( $\Delta H_F = 217,01 \text{ J.g}^{-1}$ ) (Figura 2.1E). A diminuição da fusão, em relação aos compostos individuais mostra que ocorrem interações

entre eles. Os compostos apresentam características parecidas logo, quando misturadas, as moléculas se atraem, porém de forma fraca, uma vez que a fusão da mistura ocorre em temperatura menor do que a temperatura de fusão dos compostos individuais. Entretanto, neste caso, as interações não impedem a ação terapêutica dos compostos já que se tem tratamentos que fazem uso dos dois compostos simultaneamente para o tratamento de doenças de pele (Nakagaki *et al.*, 2005; Ali *et al.*, 2010; Anbar *et al.*, 2011)

As curvas TG e DTG da mistura mostram que a decomposição da mistura ocorre em apenas uma etapa (entre 170 e 260 °C). Isto é razoável uma vez que a decomposição das duas substâncias ocorre num intervalo de temperatura que se sobrepõe.

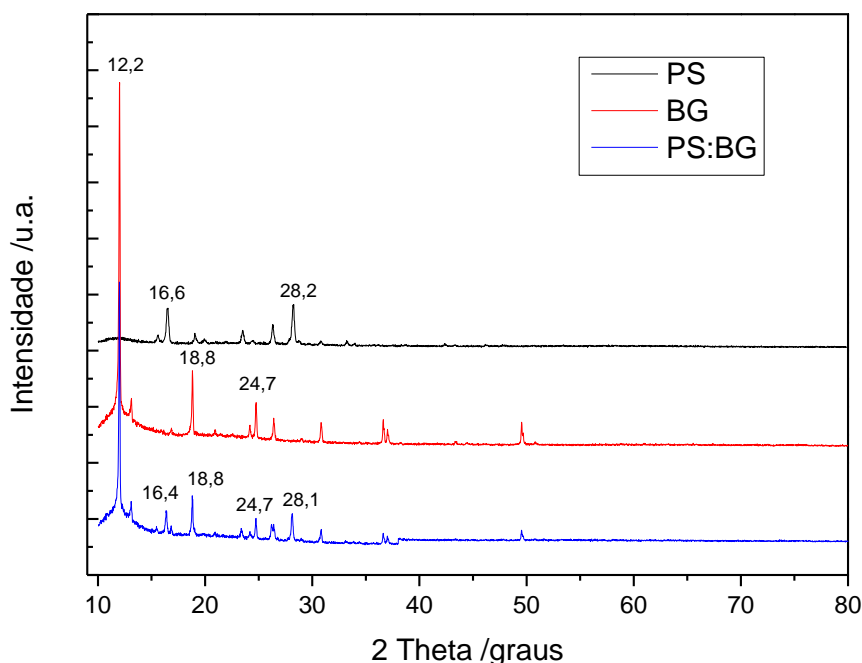
Os valores de perda de massa referentes às curvas TG do psoraleno e bergapteno e da mistura binária, bem como os valores de entalpia de fusão ( $\Delta H_F$  e  $\Delta H_{m, F}$ ), estão dispostos na Tabela 2.1.

**Tabela 2.1** Dados termoanalíticos de PS, BG e da mistura binária PS:BG.

Amostra	Evento	Fx. de Temp. (°C)	Perda de massa (%)	$\Delta H_F$ (J.g <sup>-1</sup> )	$\Delta H_{m, F}$ (KJ.mol <sup>-1</sup> )
PS (ar)	A	170-250	95,64	262,55	22,73
PS (N <sub>2</sub> )	A	170-250	98,21	259,63	23,92
BG (ar)	A	200-280	99,15	324,34	28,37
BG (N <sub>2</sub> )	A	200-280	98,58	294,52	29,33
PS:BG (ar)	A	170-260	98,01	217,01	-

A técnica de DRX, associada a outras técnicas, consiste em uma ferramenta muito importante na indústria farmacêutica para a caracterização e determinação de polimorfismo, o que deve ser previamente estudado, uma vez que estruturas cristalinas diferentes de uma mesma substância podem apresentar propriedades biológicas diferentes (Giron, 1998). Através das análises de DSC foi possível observar que as furanocumarinas em estudo não apresentaram nenhum indício de polimorfismo, porém com fins de caracterização fez-se a análise de DRX para as amostras.

A Figura 2.4 mostra os difratogramas de raios X das furanocumarinas psoraleno, bergapteno e da mistura binária dos dois compostos.



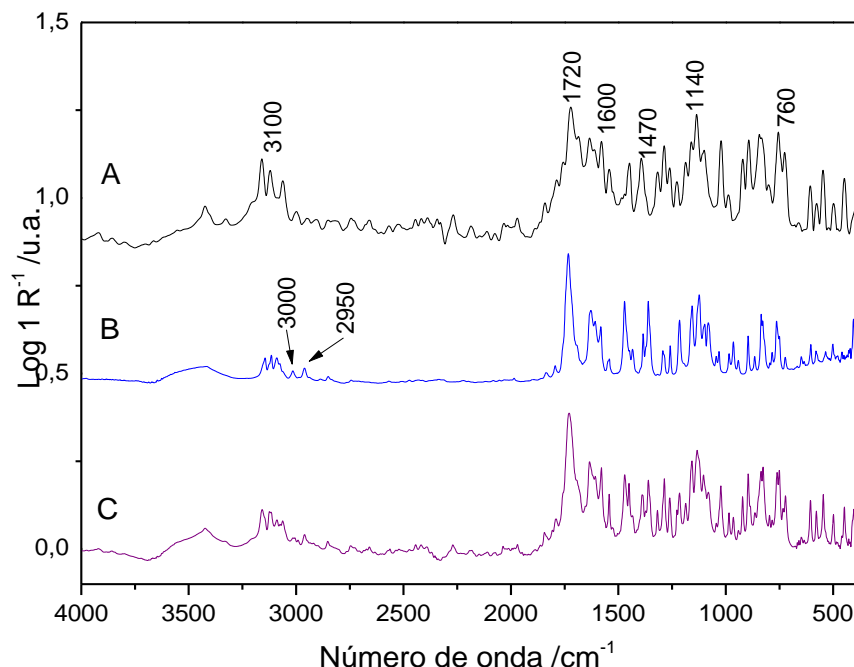
**Figura 2.4** Difratogramas de PS, BG e de PS:BG.

Santillan e colaboradores (1999) fizeram a caracterização de furanocumarinas presentes em três espécies de plantas do gênero *Dorstenia* e dentre as furanocumarinas encontradas estão o psoraleno e o bergapteno.

De acordo com os registros encontrados na *Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC)*, o difratograma do psoraleno apresenta um padrão de reflexões característico de estrutura triclinica (grupo espacial  $P_1$ ), com parâmetros cristalográficos  $a(\text{Å}) = 5,926$ ;  $b(\text{Å}) = 9,56$ ;  $c(\text{Å}) = 3,777$  com  $Z = 1$  e o pico mais intenso em  $2\theta$  igual a  $28,2^\circ$ .

Tanto para o bergapteno quanto para a mistura o pico mais intenso encontra-se em  $2\theta$  igual a  $12,2^\circ$ . O difratograma da mistura PS:BG mantém picos característicos do psoraleno e do bergapteno o que mostra que, apesar da interação capaz de abaixar o ponto de fusão em relação aos compostos individuais, as estruturas cristalinas dos compostos na mistura não apresentam modificações significativas.

A Figura 2.5 mostra os espectros na região do infravermelho do psoraleno, do bergapteno e da mistura dos compostos.



**Figura 2.5** Espectros FTIR dos compostos: (A) psoraleno, (B) bergapteno e (C) da respectiva mistura.

O espectro do psoraleno apresenta uma banda forte em  $1720\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento do grupo  $\text{C}=\text{O}$  da cumarina. A mesma banda é encontrada nos espectros do bergapteno e da mistura (Silverstein, 2006; Lopes *et al.*, 2004).

Nos três espectros da Figura 2.5 pode-se observar uma banda fraca próxima de  $3100\text{ cm}^{-1}$  característica de estiramento das ligações  $\text{C}-\text{H}$  de aromáticos. Na região próxima de  $760\text{ cm}^{-1}$  são observadas bandas às quais são atribuídas à deformação angular fora do plano das mesmas ligações. As bandas próximas a  $1600$  e  $1470\text{ cm}^{-1}$  se devem ao estiramento das ligações  $\text{C}=\text{C}$  de aromáticos. Próximo de  $1150\text{ cm}^{-1}$  observa-se uma banda larga característica de dois estiramentos assimétricos acoplados das ligações  $\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}$  e  $\text{O}-\text{C}-\text{C}$  da lactona (Silverstein, 2006)

No espectro do bergapteno (Figura 2.5B) observam-se duas bandas fracas em  $3000$  e  $2900\text{ cm}^{-1}$  que são atribuídas ao estiramento das ligações

C-H do grupo metila, presente na molécula. No entanto, o que se observa nos espectros é o aspecto parecido uma vez que as estruturas do psoraleno e do bergapteno são parecidas, de modo que, o que se tem no espectro da mistura é a sobreposição das bandas observadas para os compostos individuais.

## **2.5. Conclusões**

De acordo com os resultados obtidos, as técnicas TG e DSC mostraram que ocorrem interações entre os compostos psoraleno e bergapteno. A diminuição da temperatura do intervalo de fusão da mistura, em relação aos compostos individuais deixa clara a ocorrência de interações entre eles.

Porém, neste caso, isso não é tido como um resultado negativo, uma vez que essas interações não impedem a ação terapêutica do psoraleno e bergapteno. O difratograma da mistura mostrou que as estruturas cristalinas dos compostos na mistura permanecem inalteradas.

## **CAPÍTULO 3**

### **ESTUDO DAS INTERAÇÕES ENTRE PSORALENO E BERGAPTENO COM EXCIPIENTES**

#### **3.1. Introdução**

O estudo de interações entre as espécies que compõem uma formulação farmacêutica consiste em uma prévia para se evitar resultados indesejáveis já que, qualquer mudança no estado sólido da substância ativa pode alterar suas propriedades e sua bioequivalência, em casos de comparações entre dois produtos (Giron, 2002; Mura, 2006).

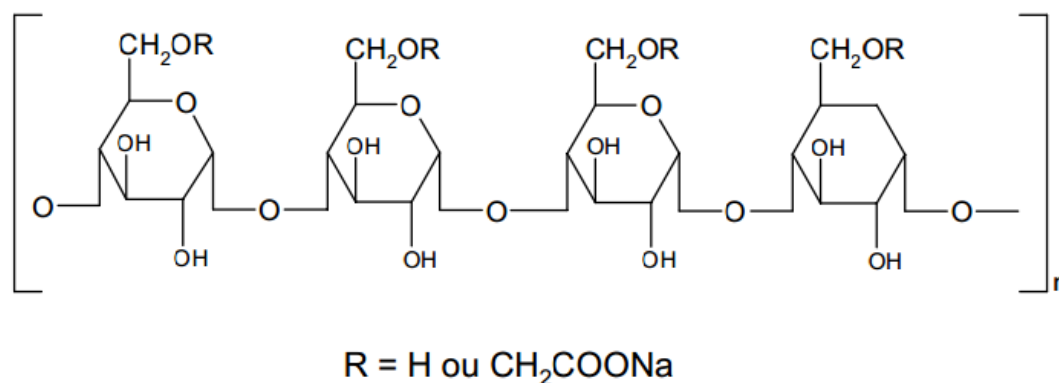
A Análise Térmica consiste em uma importante ferramenta para o estudo de uma pré-formulação, e deveria ser o primeiro ensaio a ser realizado quando se visa o desenvolvimento de uma nova forma farmacêutica, pois torna possível a caracterização de substâncias, determinação da estabilidade térmica e verificação de incompatibilidade entre as substâncias (Giron, 1998).

#### **3.1.2. Considerações sobre os excipientes utilizados**

##### ***3.1.2.1 Amido glicolato de sódio***

O amido glicolato de sódio (AMG) é uma substância de suma importância na composição de formulações farmacêuticas, pois é um excipiente que promove a desintegração e, conseqüentemente, a dissolução

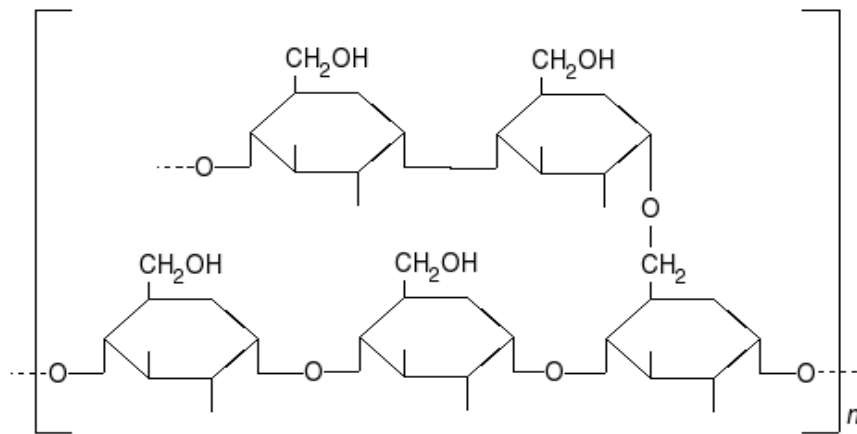
do medicamento. Sua ação desintegrante provém da captura de água provocada por intumescimento devido a interação com a água o que facilita a dissolução do medicamento. Além disso, sua eficiência não é afetada pela presença de outros excipientes hidrofóbicos. É um material obtido a partir da reação de esterificação do grupo hidroxila presente no amido (Gohel *et al.*, 2007). A estrutura química do amido está apresentada na Figura 3.1.



**Figura 3.1** Estrutura química do amido glicolato de sódio.

### 3.1.2.2 Amido

O amido é uma substância obtida de frutos, raízes e outras partes de diferentes vegetais, como milho, batata, mandioca, arroz, entre outros. Quimicamente, o amido é constituído por unidades de amilose (27%) e amilopectina (73%) (Schnitzler *et al.*, 2008). Como descrito na Farmacopeia Brasileira (2010), sua principal utilidade na indústria farmacêutica está no fato de atuar como agente desintegrante e diluente das formulações. A estrutura química do amido está apresentada na Figura 3.2.



**Figura 3.2** Estrutura química do amido.

Quando aquecido em meio aquoso, o amido passa pelo processo gelatinização que consiste no rompimento das moléculas de amido e, conseqüente, liberação de amilose e amilopectina, o que faz com que toda água do meio seja absorvida formando uma pasta viscosa. Por se tratar de um processo industrial de suma importância, pois converte amido em glicose, a gelatinização tem sido amplamente estudada por DSC, juntamente com outras técnicas como Microscopia Eletrônica de Varredura. (SEM) (Aggarwal e Dollimore, 2000; Schnitzler *et al.*, 2008).

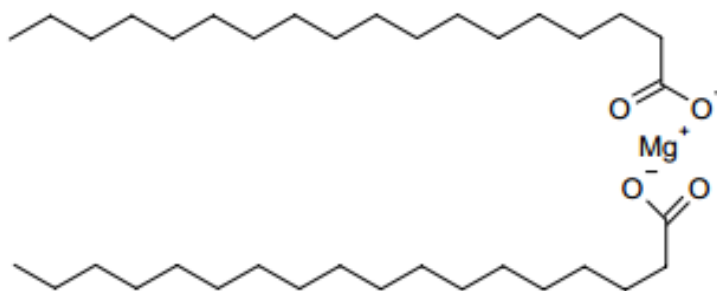
Schnitzler e colaboradores (2008) estudaram a influência do tratamento ácido a 30 e 50 °C no comportamento térmico e no processo de gelatinização de grânulos de amido de milho. Foi concluído que a energia necessária para a ruptura dos grânulos de amido foi menor para o amido ao qual foi feito o tratamento ácido.

Hirashima e colaboradores (2012) também estudaram a influência do tratamento ácido (pH entre 3,0 e 5,0), neste caso com ácido cítrico, no processo de gelatinização e a conclusão foi que a amostra tratada em pH=3,0 apresentou melhores resultados na formação de cadeias de glicose e os comprimentos das cadeias de amilose e amilopectina foram menores. Os resultados obtidos por DSC tornaram possível avaliar o processo de re-gelatinização, através da comparação de valores de entalpia antes e após armazenamento de 3 a 45 dias, e concluíram que o valor do pH não afetou esse processo.

Aggarwal e Dollimore (1998) fizeram um estudo comparativo entre as degradações de amidos de diferentes origens vegetais utilizando análise térmica. A reatividade no estado sólido dos amidos foi determinada a partir da extensão de decomposição de cada amostra através de um método que dispensa as complexidades envolvidas nos parâmetros de Arrhenius. Os resultados mostraram que os amidos de arroz e de batata são mais reativos no estado sólido do que os amidos de trigo e de milho. Segundo os autores o mesmo método pode ser aplicado para o estudo da reatividade de outras amostras no estado sólido.

### 3.1.2.3 *Estearato de magnésio*

Estearato de magnésio é um excipiente constituído por uma mistura de ácidos graxos e sais de ácidos graxos, o que resulta em um composto com densidade variável e com propriedades antiaderentes e lubrificantes. Em geral, a função dos antiaderentes e lubrificantes é facilitar a ejeção dos comprimidos e evitar a fricção entre os lados dos comprimidos e as partes metálicas da máquina compressora (Sharpe *et al.*, 1997). A estrutura química do estearato de magnésio está apresentada na Figura 3.3.



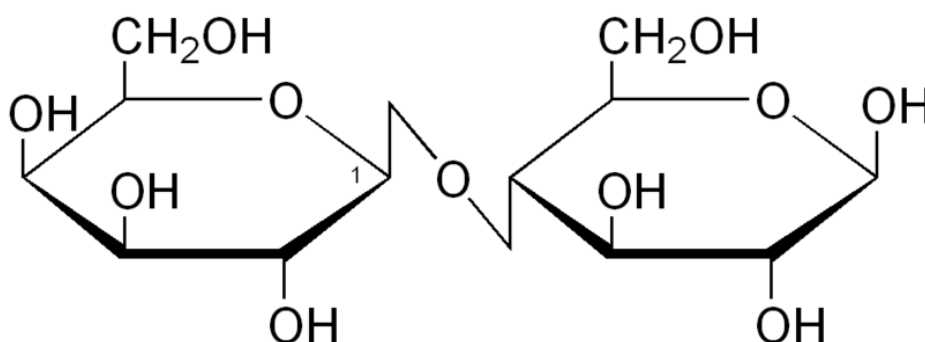
**Figura 3.3** Estrutura química do estearato de magnésio.

Além disso, tem a finalidade de diminuir a adesão da mistura a ser comprimida às faces dos punções ou à parede da matriz, e promover o escoamento dos granulados por redução da fricção entre as partículas. É muito importante o doseamento correto dos lubrificantes e antiaderentes nas formulações farmacêuticas, uma vez que essas substâncias, devido às suas propriedades hidrofóbicas, podem aumentar excessivamente o tempo de

desintegração dos comprimidos, o que é indesejável (Sharpe *et al.*, 1997; Picker-Freyer e Schmidt, 2004).

### 3.1.2.4 Lactose

A lactose é um dissacarídeo constituído de  $\beta$ -D-galactose e D-glicose. Consiste em um dos mais importantes adjuvantes utilizados na indústria farmacêutica devido à sua capacidade diluente e aglutinante, o que faz com que se obtenha comprimidos com bom aspecto, além de apresentar baixo custo. A lactose obtida através do processo spray-dried constitui um, entre os vários tipos de lactose encontrados para compressão direta (Epple *et al.*, 1995). A estrutura química da lactose está mostrada na figura 3.4.



**Figura 3.4** Estrutura química da lactose.

Muitos estudos tem sido feitos utilizando-se DSC integrada a outras técnicas, como DRX, para a investigação da cristalinidade da lactose. Gombás e colaboradores, 2002 utilizaram DSC e difração de raios X (DRX) para determinar quantitativamente a cristalinidade da lactose. Os dois métodos foram comparados e os autores concluíram que a DSC pode ser seguramente utilizada para determinação quantitativa da cristalinidade da lactose, porém neste caso, é uma técnica menos precisa do que DRX. Entretanto, a DSC é mais vantajosa em relação à DRX para determinação de quantidades de amostras amorfas.

Encontra-se na literatura alguns estudos que mostram que a lactose interage com drogas que apresentam aminas primárias e secundárias em

sua estrutura tais como fluoxetina, ranitidina, etamsilato, entre outros. No entanto há fármacos que não possuem aminas em suas estruturas e apresentam incompatibilidade com a lactose como, por exemplo, fluconazol e pefloxacina. A incompatibilidade, neste caso, é observada a partir de mudanças, como desaparecimento ou deslocamento de picos, das substâncias nas misturas em relação aos compostos individuais (Desai *et al.*, 2003; Bharate *et al.*, 2010).

### **3.1.2.5 Talco**

O talco é uma substância composta quimicamente por silicatos de magnésio hidratado ( $3\text{MgO} \cdot 4 \text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), podendo conter uma pequena porção de silicato de alumínio e ferro. É um pó cristalino fino, branco ou branco acinzentado, inodoro muito utilizado em formulações farmacêuticas sólidas como deslizante ou promotores de escoamento. Além disso, pode ser utilizado em produtos de liberação controlada, já que tem a capacidade de retardar a dissolução de alguns ingredientes (Stulzer *et al.*, 2006).

## **3.2. Objetivos**

Esta etapa teve como objetivos avaliar o perfil termoanalítico, através de TG e DSC, de alguns excipientes comumente utilizados em formulações farmacêuticas, bem como avaliar o comportamento das misturas binárias de psoraleno e bergapteno com os mesmos excipientes e determinar a existência ou não de interações entre essas substâncias.

## **3.3. Metodologia**

Além dos padrões Psoraleno (PS) e Bergapteno (BG) (Sigma), foram utilizados os seguintes excipientes: amido glicolato de sódio (AMS), amido de milho (AM), estearato de magnésio (EM), lactose spray-dried (LC), e talco (TC), fornecidos pela Indústria Química do Estado de Goiás (IQUEGO). Para

a avaliação de possíveis interações entre os princípios ativos e entre ativos e excipientes, foram feitas misturas na proporção 1:1 de cada padrão com os excipientes.

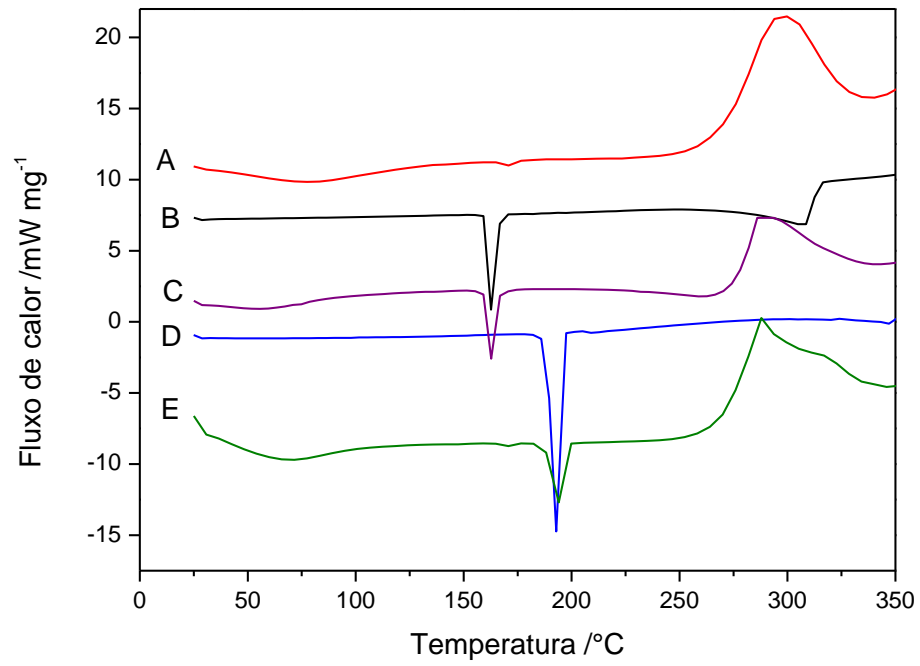
As curvas TG e DTG foram obtidas em um equipamento TGA/SDTA modelo 851<sup>e</sup> Mettler Toledo de 25 a 600°C. As curvas DSC foram obtidas em um equipamento modelo 822<sup>e</sup> da Mettler Toledo de 25 a 300 °C. Ambas, foram realizadas a 10 °C.min<sup>-1</sup>, em atmosfera de ar sintético, com fluxo de 50 mL.min<sup>-1</sup> e massa de amostra de aproximadamente 2 mg.

Os espectros das amostras na região do infravermelho de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup> foram obtidos em um espectrômetro FTIR Bomem, série MB100, com acessório de refletância difusa do tipo Colletor e microsuporte de 3 mm de diâmetro. As amostras foram diluídas em KBr (1%) e os espectros foram obtidos usando 120 varreduras e resolução de 4 cm<sup>-1</sup>. A radiação de fundo foi obtida com KBr.

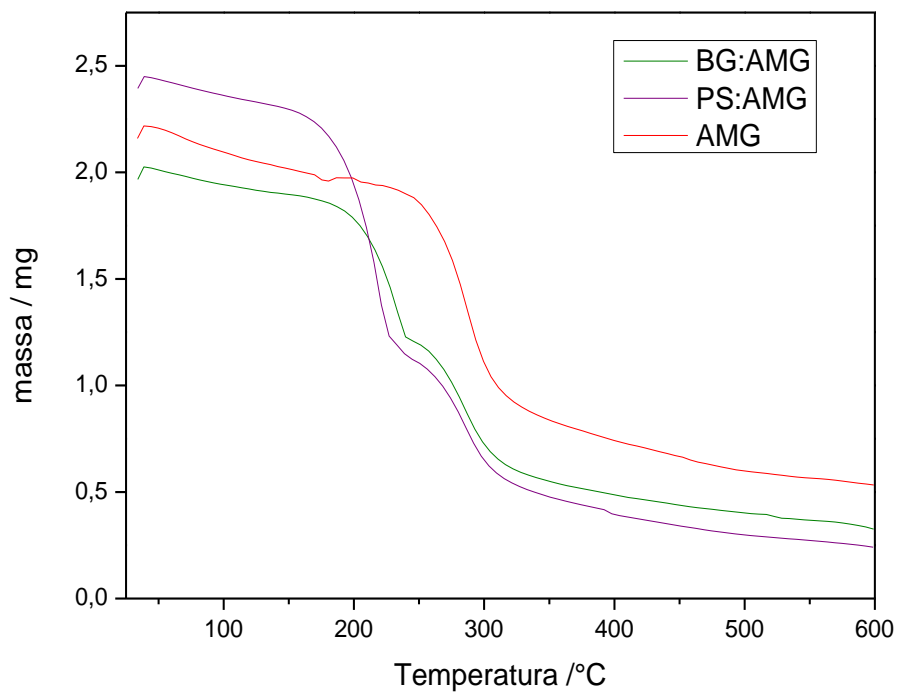
### **3.4. Resultados e Discussões**

#### ***3.4.1. Amido glicolato de sódio***

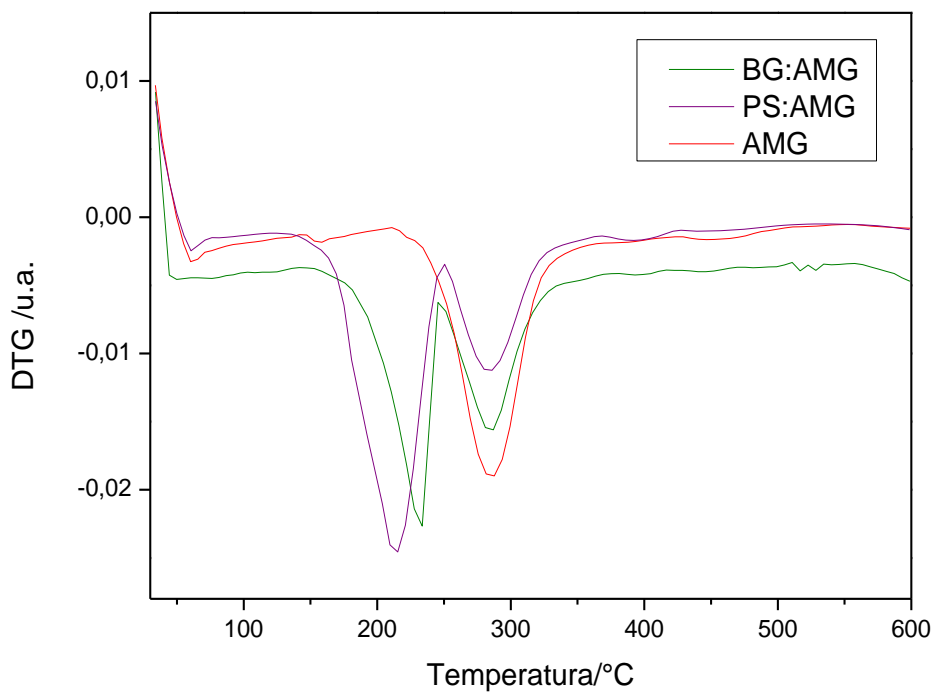
A curva DSC do amido glicolato de sódio (Figura 3.5A) mostra um evento endotérmico entre 55 e 100 °C referente à perda de água superficial e um exotérmico que se inicia em 250 °C e termina em torno de 320 °C. O segundo evento corresponde ao início da decomposição do excipiente como confirmado pela perda de massa nesse mesmo intervalo de temperatura ( $\Delta m = 52,1 \%$ ) observada nas curvas TG e DTG (Figuras 3.6 e 3.7).



**Figura 3.5** Curvas DSC comparativas entre (A) AMG (2,20 mg); (B) PS (2,15 mg); (C) PS:AMG (2,45 mg); (D) BG (2,30 mg) e (E) BG:AMG (2,41 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.6** Curvas TG de AMG (2,15 mg), PS:AMG (2,39 mg) e BG:AMG (1,97 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.7** Curvas DTG de AMG, PS:AMG e BG:AMG.

Quando se observa as curvas DSC das misturas binárias de PS:AMG e BG:AMG (Figura 3.5B e C, respectivamente) , nota-se que o intervalo de fusão dos princípios ativos não é alterado significativamente. O que ocorre é apenas a diminuição da entalpia de fusão ( $\Delta H_F$ ) dos ativos, o que é razoável, uma vez que, na mistura, a quantidade dos mesmos é menor (Tabela 2.1 pág. 18).

Porém quando se calcula os valores de entalpia molar de fusão ( $\Delta H_{m,F}$ ) para cada caso observa-se apenas uma pequena alteração no caso da mistura PS:AMG em relação ao PS puro (Tabela 3.1). No caso da mistura BG:AMG nota-se uma maior alteração no valor de  $\Delta H_{m,F}$  da mistura em relação ao BG, que se deve provavelmente ao fato de a quantidade de BG considerada para o cálculo de  $\Delta H_{m,F}$  na mistura não corresponder ao valor real.

No entanto, todas as evidências levam a concluir que não ocorrem interações entre os ativos e o excipiente em estudo, pois a temperatura de fusão, tida como a identidade dos compostos não teve nenhuma alteração, indicando que a estrutura dos compostos permanece intacta (Giron, 1998; Tita, 2011).

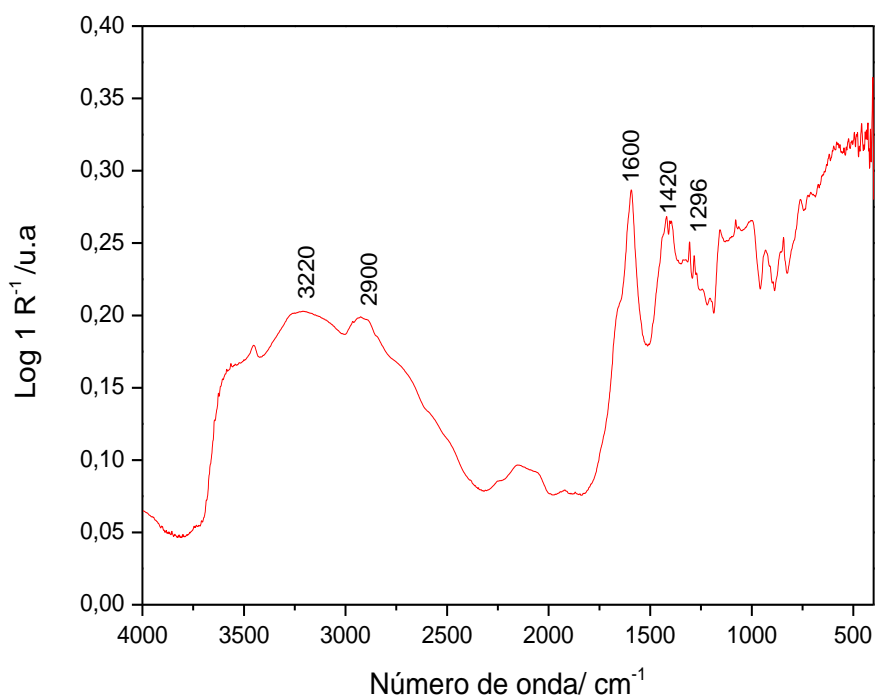
Além disso, as curvas TG e DTG das misturas binárias (Figuras 3.6 e 3.7) mostram duas etapas de decomposição, o que torna ainda mais evidente a ausência de interações entre os compostos, uma vez que o comportamento das substâncias na mistura é similar ao das substâncias isoladas. Ou seja, os eventos observados nas curvas DSC, TG e DTG das misturas correspondem à soma dos eventos observados nas curvas dos compostos individuais (Clas *et al.*, 1999; Conway *et al.*, 2011).

Os valores de perda de massa referentes às curvas TG do AMG e das misturas binárias com PS e BG, bem como os valores de entalpia, estão dispostos na Tabela 3.1.

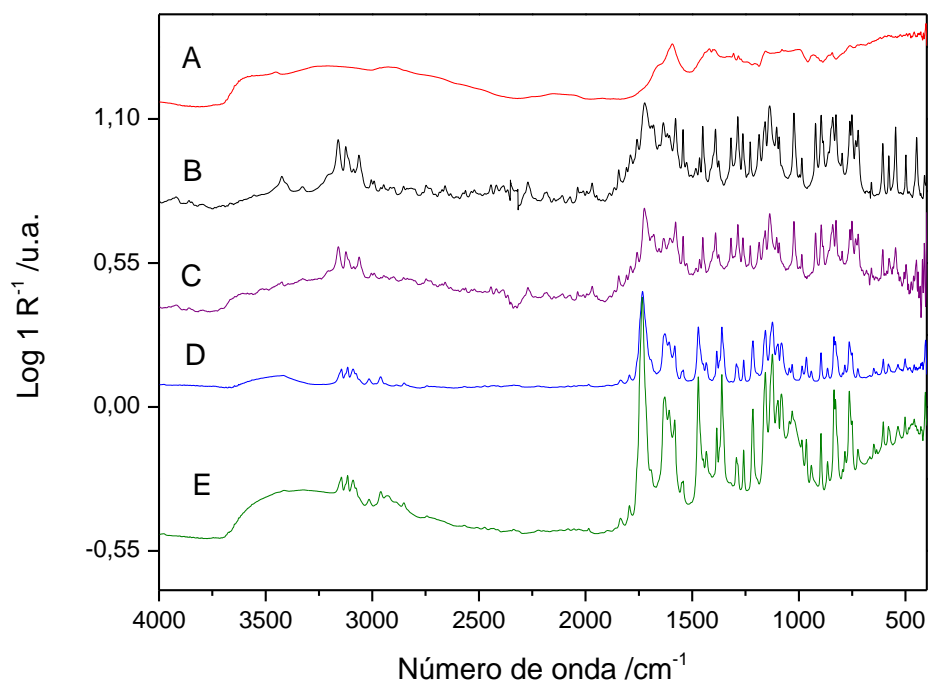
**Tabela 3.1** Dados termoanalíticos de AMG e suas misturas binárias com PS e BG.

Amostra	Evento	Fx. de Temp. (°C)	Perda de massa (%)	$\Delta H_F$ (J.g <sup>-1</sup> )	$\Delta H_{m,F}$ (KJ.mol <sup>-1</sup> )
AMG	A	55-100	5,00		
	B	210-350	52,10		
PS:AMG	A	145-250	48,88	161,45	24,54
	B	250-350	24,78		
BG:AMG	A	150-250	45,74	110,45	18,44
	B	250-350	33,22		

A Figura 3.8 e 3.9, respectivamente, mostram os espectros na região do infravermelho do amido glicolato de sódio e também das misturas do excipiente com os ativos PS e BG.



**Figura 3.8** Espectro FTIR do AMG.



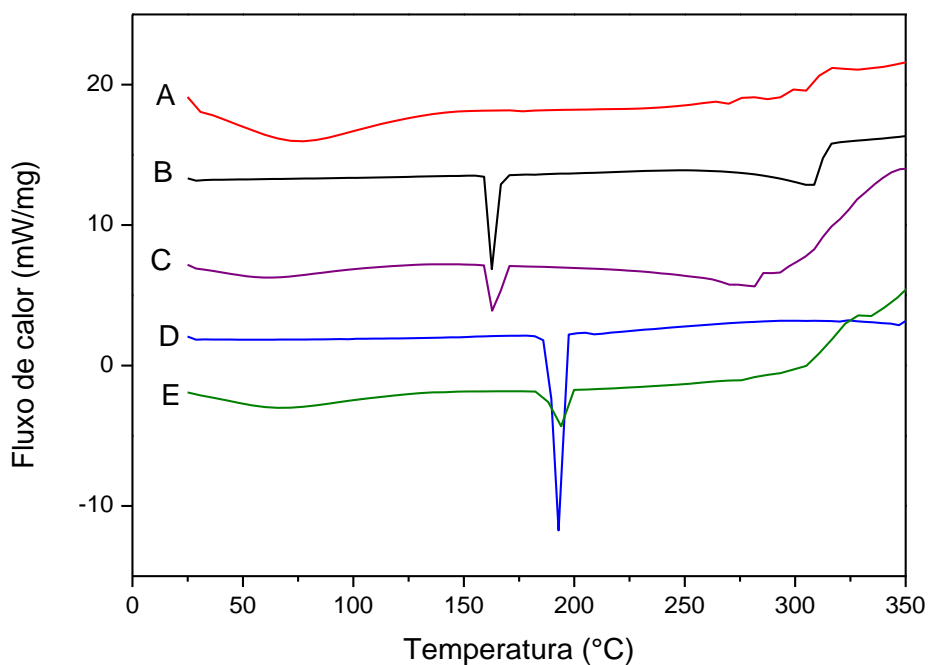
**Figura 3.9** Espectros FTIR comparativos entre: (A) AMG, (B) PS, (C) PS:AMG, (D) BG e (E) BG:AMG.

O espectro do AMG mostra uma larga banda na região de  $3250\text{ cm}^{-1}$  o que corresponde a estiramento das ligações O-H dos grupos hidroxila presentes na molécula do excipiente. A forte absorção na região de  $1600\text{ cm}^{-1}$  se deve ao estiramento da ligação C=O do grupo éster. Pode-se observar uma banda forte em  $1296\text{ cm}^{-1}$  característica de estiramento de ligações C-O de álcoois. Em  $2900\text{ cm}^{-1}$  observa-se uma banda correspondente ao estiramento de ligações C-H e em  $1420\text{ cm}^{-1}$  tem-se uma banda que corresponde à deformação angular dessas mesmas ligações (Silverstein, 2006).

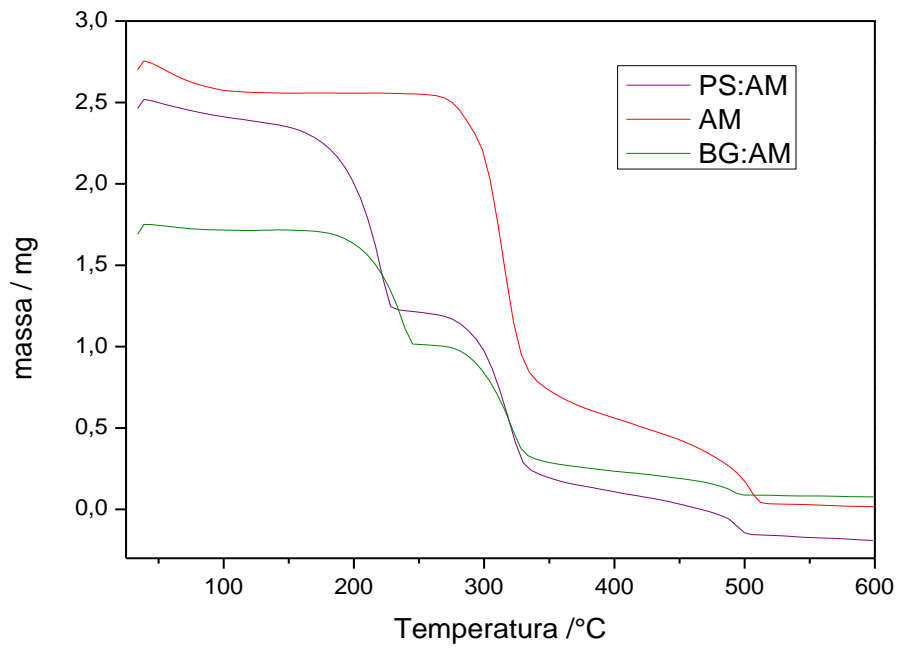
Como se pode observar os espectros das misturas PS:AMG e BG:AMG (Figura 3.9C e 3.9E) apresentaram bandas que correspondem à soma das bandas encontradas nos espectros dos compostos individuais, de modo que, não houve a formação de nenhuma nova banda nos espectros da mistura, o que comprova que não ocorreram interações químicas entre os princípios ativos PS e BG com o excipiente AMG (Bruni *et al.*, 2010; Pani *et al.*, 2011).

### 3.4.2. Amido de milho

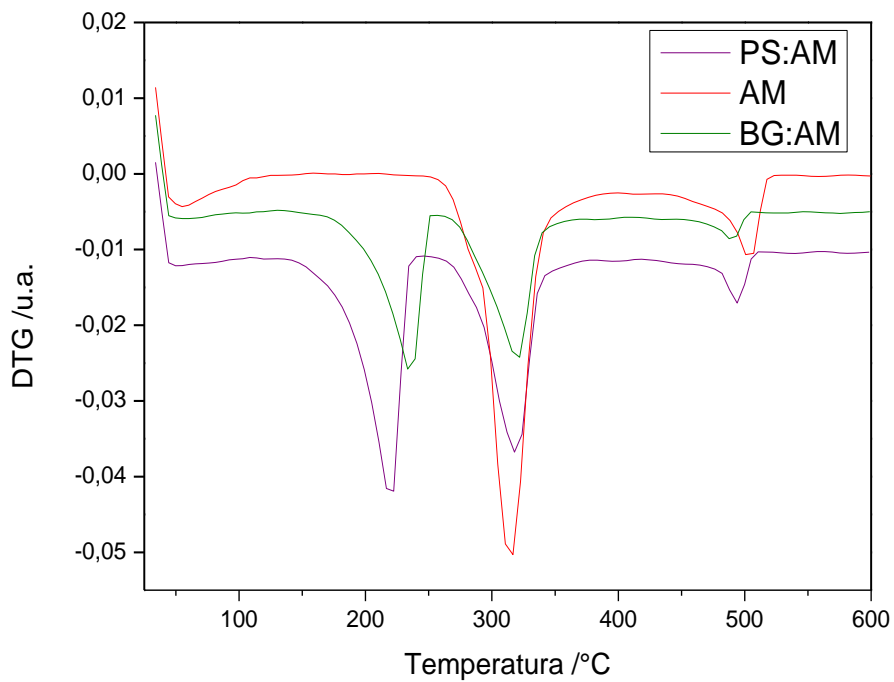
A curva DSC do amido de milho (Figura 3.10A) mostra um evento endotérmico que ocorre entre 50 e 110 °C, correspondente à perda de água de hidratação. Este evento é confirmado pelas curvas TG e DTG (Figuras 3.11 e 3.12), que mostram, neste intervalo, perda de massa de 7,1%. O processo de gelatinização não ocorre neste caso, devido ao amido não se encontrar em meio aquoso.



**Figura 3.10** Curvas DSC comparativas entre (A) AM; (B) PS (2,15 mg); (C) PS:AM (2,50 mg); (D) BG (2,30 mg) e (E) BG:AM (2,56 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.11** Curvas TG de AM (2,20 mg), PS:AM (2,46 mg) e BG:AM (1,89 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.12** Curvas DTG de AM, PS:AM e BG:AM.

Após a desidratação, o amido permanece estável até aproximadamente 280 °C. Acima desta temperatura observa-se um evento exotérmico na curva DSC que se deve aos processos de oxidação e decomposição. A decomposição está confirmada pelas curvas TG e DTG onde se observa duas perdas de massa, uma entre 280 e 370 °C e outra entre 450 e 520 °C (Tabela 3.2) que correspondem à decomposição da amilose e da amilopectina (Schnitzler *et al.*, 2008). Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Aggarwal e Dollimore (1998).

As curvas DSC das misturas binárias PS:AM e BG:AM (Figuras 3.10C e 3.10E) mostraram que não houve, em nenhum dos casos, o deslocamento significativo do intervalo de fusão dos ativos (PS:AM;  $\Delta H = 156,58 \text{ J.g}^{-1}$  e BG:AM;  $\Delta H = 164,00 \text{ J.g}^{-1}$ ). Além disso, como pode ser observado na Tabela 3.2, os valores de entalpia molar do pico referente à fusão dos ativos mostraram-se muito próximos daqueles encontrados para a fusão dos compostos individualmente (Tabela 2.1), o que evidencia que não ocorreram interações entre os compostos.

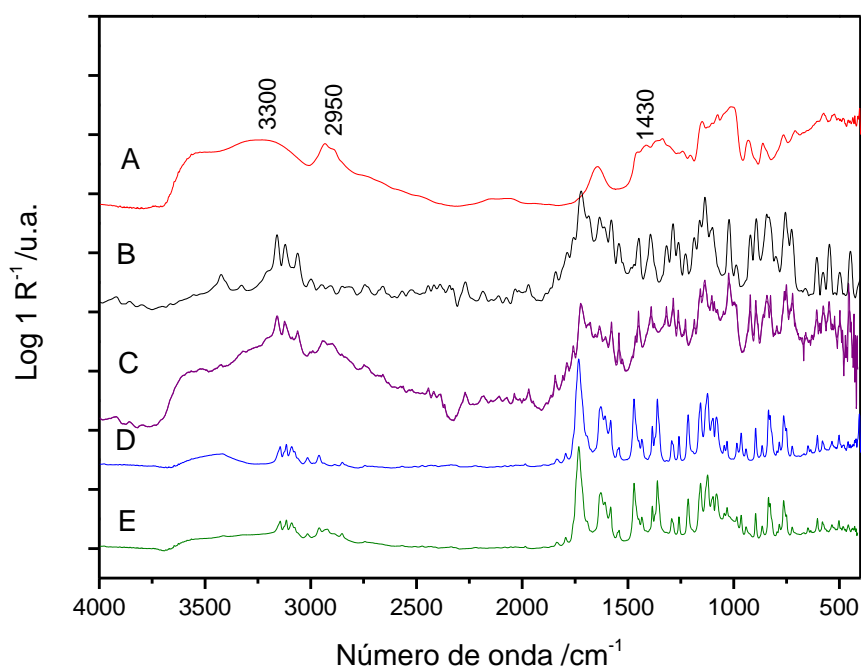
As curvas TG e DTG das misturas também mostram nos dois casos que no intervalo de decomposição (entre 160 e 360 °C) há apenas duas etapas, confirmando que o que ocorreu foi apenas uma mistura física entre os componentes e não houve interações entre os ativos PS e BG com AM (Giron, 1998; Clas *et al.*, 1999; Mora *et al.*, 2006).

Todos os valores de perda de massa referentes às curvas TG do AM, bem como de suas misturas binárias com PS e BG e os valores de entalpia estão dispostos na Tabela 3.2.

**Tabela 3.2** Dados termoanalíticos de AM e suas misturas binárias com PS e BG.

Amostra	Evento	Fx. de Temp. (°C)	Perda de massa (%)	$\Delta H_F$ (J.g <sup>-1</sup> )	$\Delta H_{m,F}$ (KJ.mol <sup>-1</sup> )
AM	A	50-110	7,10		
	B	280-370	70,50		
	C	450-520	11,32		
PS:AM	A	163-240	46,66	156,58	23,37
	B	260- 363	41,33		
BG:AM	A	164-275	41,60	164,00	25,75
	B	280-370	43,75		

Os espectros na região do infravermelho do AM e das misturas com os princípios ativos estão apresentados na Figura 3.13.



**Figura 3.13** Espectros FTIR dos compostos: (A) AM, (B) PS, (C) PS:AM, (D) BG e (E) BG:AM.

O espectro do AM (Figura 3.13A) apresenta na região de 3300 cm<sup>-1</sup> uma larga banda que se refere ao estiramento da ligação O-H dos grupos hidroxila presentes na molécula de amido. Em 2950 cm<sup>-1</sup> tem-se uma banda que corresponde ao estiramento de ligações C-H de grupos CH<sub>2</sub> e em 1430

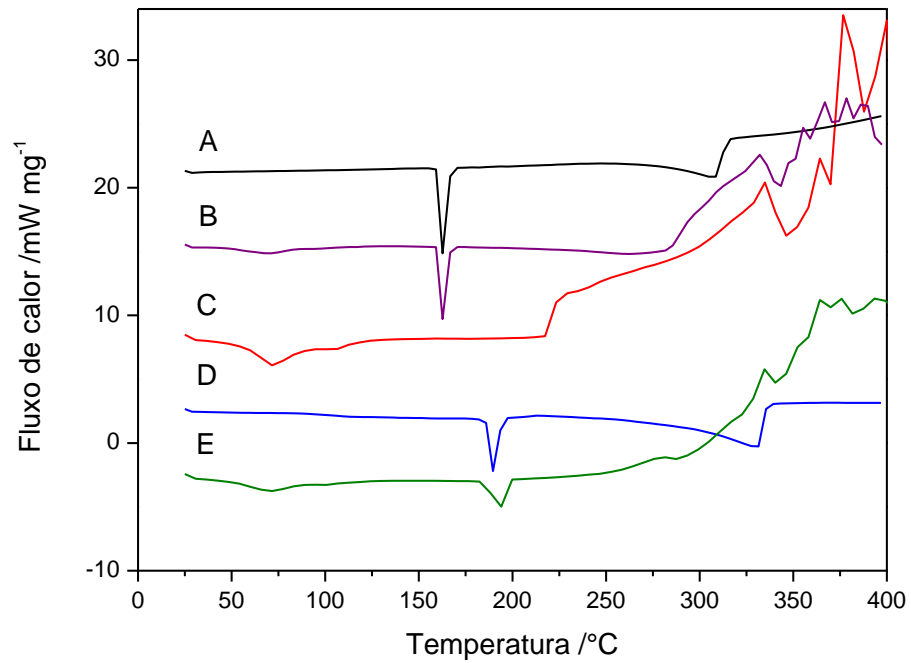
cm<sup>-1</sup> encontra-se uma banda característica à deformação angular dessas mesmas ligações (Lopes *et al.*, 2004; Silverstein, 2006).

Quando se observa os espectros das misturas do AM com os princípios ativos tem-se a confirmação dos resultados obtidos a partir das técnicas de análise térmica, pois nenhuma banda é formada. Há apenas a sobreposição de algumas bandas do excipiente por bandas dos princípios ativos que são mais intensas. Logo, de acordo com os resultados do infravermelho, o que ocorre, também neste caso, é apenas a mistura física entre os compostos, sem quaisquer modificações na estrutura química dos ativos (Pani *et al.*, 2011).

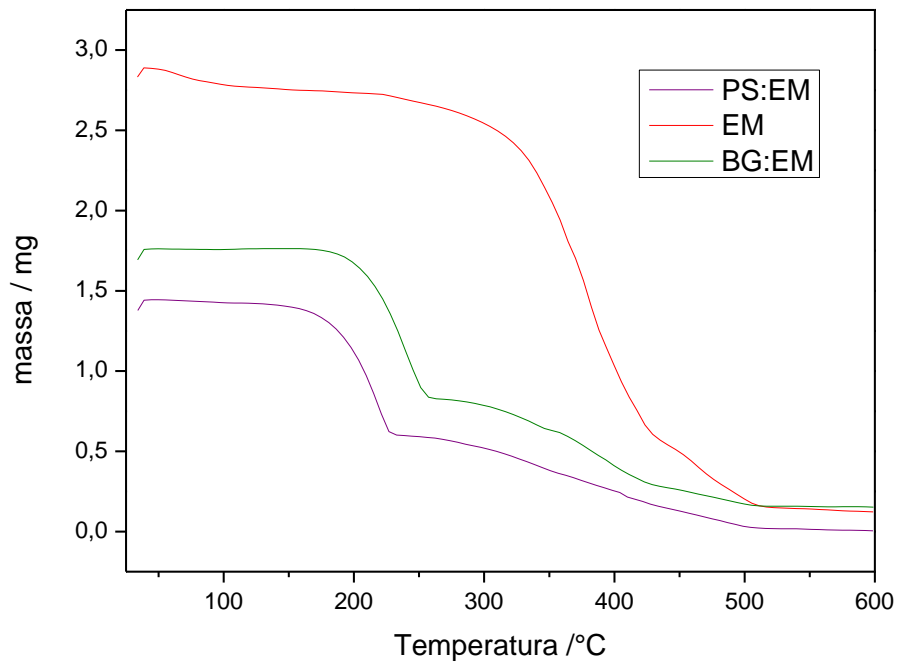
### ***3.4.3. Estearato de Magnésio***

A curva DSC do EM (Figura 3.14C) apresenta um evento endotérmico entre 50 e 115 °C. Estudos feitos por Pani e colaboradores (2011) mostraram que o estearato de magnésio apresenta vários estágios de desidratação abaixo de 110 °C. Em 50 °C inicia-se a primeira fase de desidratação que corresponde à perda de água superficial, que coincide parcialmente com uma segunda fase em temperatura mais elevada. Em decorrência dessa coincidência parcial entre os eventos observa-se nas curvas TG e DTG (Figuras 3.15 e 3.16) apenas uma etapa de perda de massa correspondente à desidratação ( $\Delta m = 3,8\%$ ). A fusão do estearato de magnésio ocorre em torno de 105 °C e produz um pico endotérmico com uma espécie de ombro que é causado pela fusão de palmitado de magnésio ou de polimorfos com mais elevado ponto de fusão (Sharpe *et al.*, 1997; Giron, 2002; Pani *et al.*, 2011).

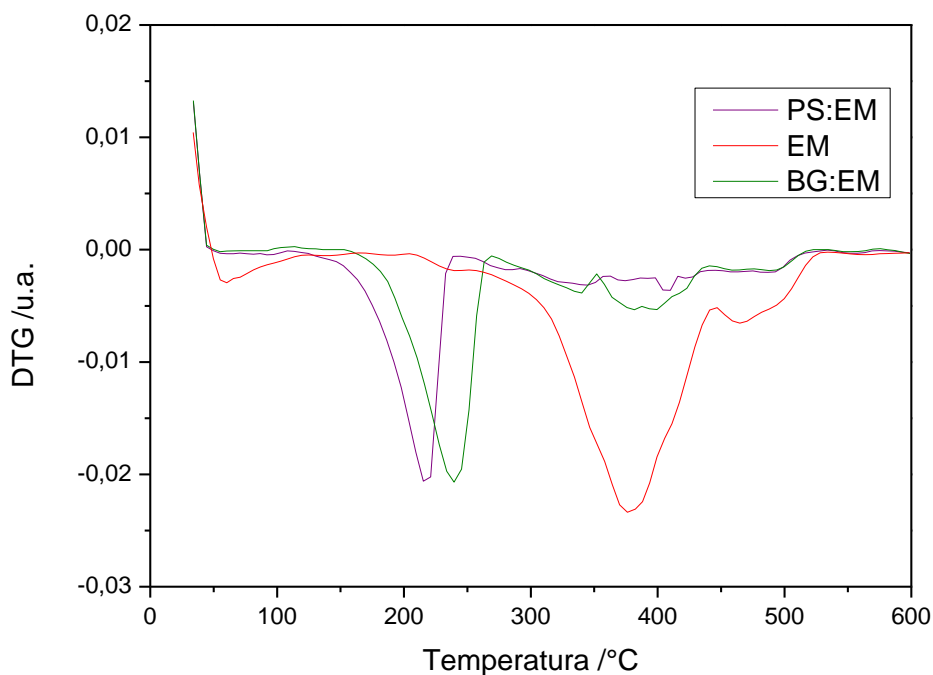
Após 115 °C o EM apresenta estabilidade térmica até aproximadamente 240 °C, quando se inicia a decomposição térmica do excipiente, como se pode pelas curvas TG e DTG com perda de cerca de 90% de massa (Tabela 3.3). Este evento é confirmado por um evento exotérmico na curva DSC.



**Figura 3.14** Curvas DSC comparativas entre (A) PS (2,15 mg); (B) PS:EM (2,15 mg); (C) EM (2,68 mg); (D) BG (2,30 mg) e (E) BG:EM (2,25 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.15** Curvas TG de PS:EM (1,87 mg), EM (2,43 mg) e BG:EM (1,79 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.16** Curvas DTG de EM, PS:EM e BG:EM.

Pode-se observar que acima de 300 °C a curva DSC do EM apresenta algumas oscilações na linha de base. E isso se deve exatamente às suas propriedades antiaderentes, o que significa que a substância, de densidade variável, em determinado momento perde contato com o porta-amostra e o sensor localizado na parte inferior do mesmo não registra uniformemente o evento, o que leva às citadas oscilações mostradas na curva DSC.

As curvas DSC das misturas PS:EM e BG:EM mostraram que o intervalo de fusão dos ativos permanece inalterado e a energia envolvida no processo de fusão varia pouco em relação aos compostos individuais. A variação encontrada no caso de PS:EM em relação a PS se deve à quantidade presente na mistura ser diferente daquela considerada no cálculo. Assim, a permanência do pico de fusão é um forte indício de que não ocorreram interações entre os ativos e o excipiente.

As curvas TG e DTG (Figuras 3.15 e 3.16) confirmam que as referidas misturas tratam-se apenas de misturas físicas, já que a decomposição das misturas ocorre em duas etapas (Tabela 3.3) que

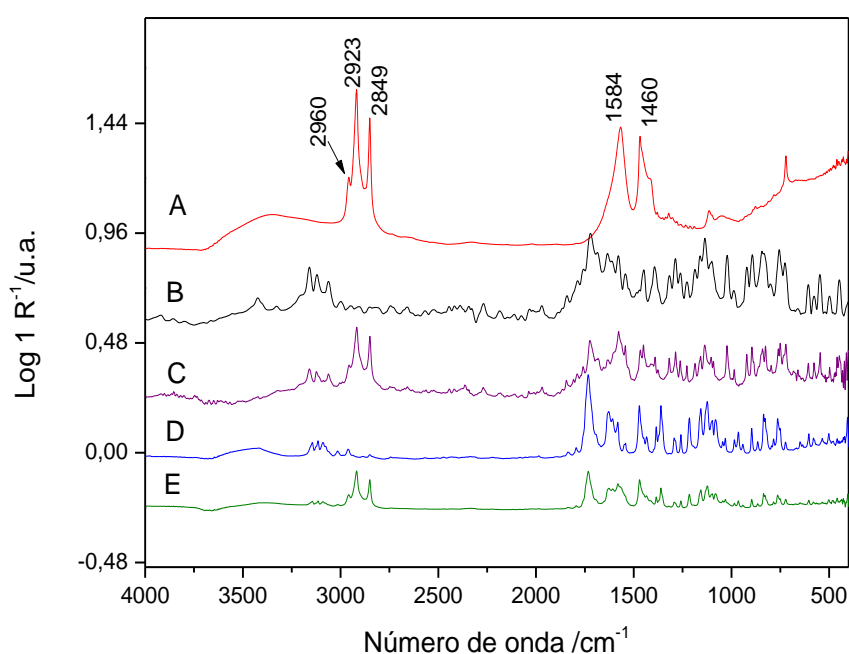
correspondem à decomposição dos compostos separadamente, ou seja, os componentes na mistura comportam-se como se estivessem isolados.

Os valores de perda de massa referentes às curvas TG do EM e das misturas binárias com PS e BG, bem como os valores de entalpia, estão dispostos na Tabela 3.3.

**Tabela 3.3** Dados termoanalíticos de EM e suas misturas binárias com PS e BG.

Amostra	Evento	Fx. de Temp. (°C)	Perda de massa (%)	$\Delta H_F$ (J.g <sup>-1</sup> )	$\Delta H_{m,F}$ (KJ.mol <sup>-1</sup> )
EM	A	50-115	3,80		
	B	240-520	91,20		
PS:EM	A	163-240	58,85	168,48	25,73
	B	300- 500	32,92		
BG:EM	A	170-250	55,54	171,73	30,72
	B	290-470	31,95		

A Figura 3.17 mostra os espectros FTIR do EM e suas respectivas misturas com os princípios ativos PS e BG.



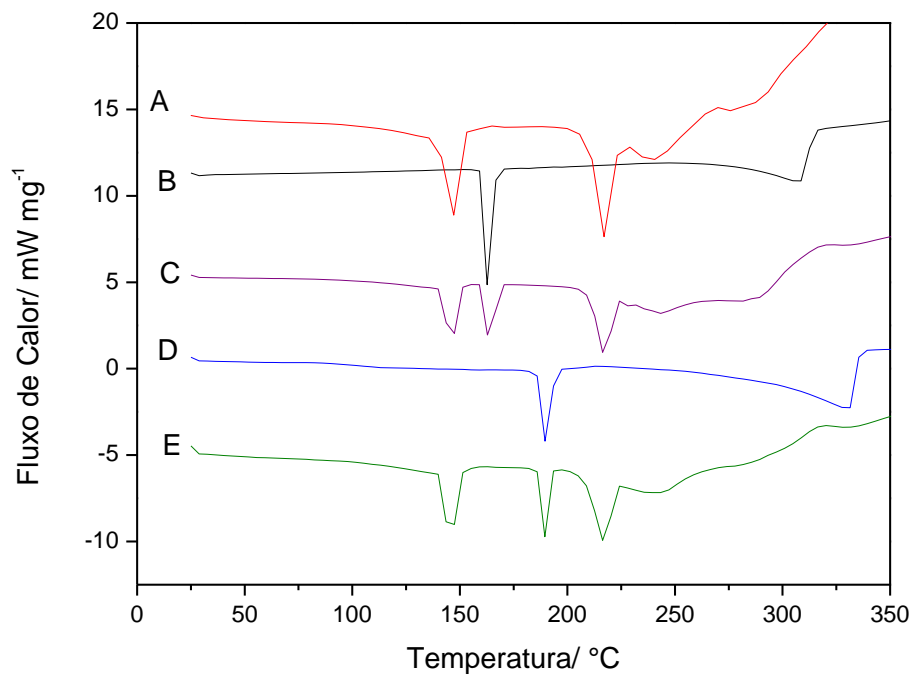
**Figura 3.17** Espectros FTIR dos compostos: (A) EM, (B) PS, (C) PS:EM, (D) BG e (E) BG:EM.

No espectro do EM (Figura 3.17A) são observadas bandas em 2923  $\text{cm}^{-1}$  e em 2849  $\text{cm}^{-1}$ , referentes a estiramento simétrico e assimétrico do grupo carbonila do íon carboxilato. Outras duas bandas fortes são observadas em 1584  $\text{cm}^{-1}$  e 1460  $\text{cm}^{-1}$ , referentes a estiramento assimétrico e simétrico do íon carboxilato. Em 2960  $\text{cm}^{-1}$  observa-se uma banda fraca característica de estiramento de ligações C-H de alcanos e uma banda em 719  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a deformação angular de (H-C-H)<sub>n</sub>, com  $n > 3$  (Silverstein, 2006; Pani *et al.*, 2011; Tita *et al.*, 2011).

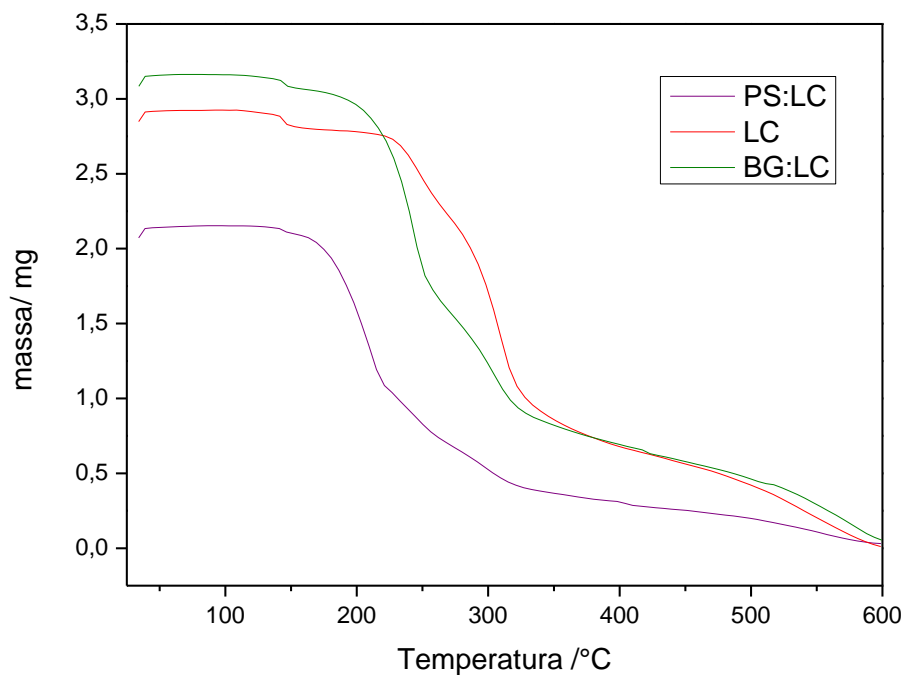
Os espectros referentes às misturas PS:EM e BG:EM (Figura 3.17C e 3.17E) correspondem à soma dos espectros dos compostos individuais, de modo que, ocorrem sobreposições das bandas do EM na região entre 1550 e 1150  $\text{cm}^{-1}$  nos espectros do PS e BG, o que leva à diminuição na intensidade das bandas dos ativos na mistura, em relação aos compostos individuais. Porém, os resultados observados nos espectros na região do infravermelho confirmam que não ocorrem interações entre os ativos PS, BG e o excipiente EM (Pani *et al.*, 2011).

#### ***3.4.4. Lactose Spray-dried***

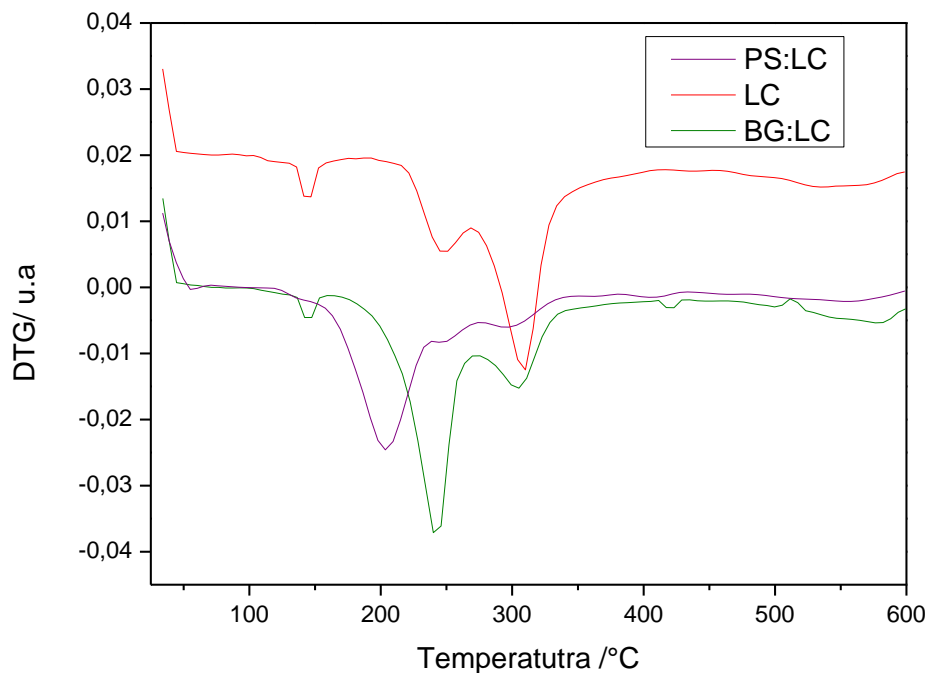
A curva DSC da lactose (Figura 3.18A) apresenta dois eventos endotérmicos. O primeiro em 145 °C ( $\Delta H = 227,07 \text{ J.g}^{-1}$ ) corresponde à perda de água de hidratação e também à mudança de fase cristalina de  $\alpha$  para  $\beta$ -lactose. A perda de água é confirmada pelas curvas TG e DTG (Figuras 3.19 e 3.20) que mostram uma perda de massa de 4,55% a esta mesma temperatura. O segundo evento ocorre entre 219 e 224 °C ( $\Delta H = 287,79 \text{ J.g}^{-1}$ ) corresponde à fusão da  $\beta$ -lactose (Gombás *et al.*, 2002; Pani *et al.*, 2011; Tita *et al.*, 2011).



**Figura 3.18** Curvas DSC comparativas entre (A) LC (2,53 mg); (B) PS (2,15 mg); (C) PS:LC (2,58 mg); (D) BG (2,30 mg) e (E) BG:LC (2,10 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.19** Curvas TG de PS:LC (2,27 mg), LC (2,84 mg) e BG:LC (2,80 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.20** Curvas DTG de PS:LC, LC e BG:LC.

Como mostram as curvas TG e DTG (Figuras 3.15 e 3.16), a lactose apresenta, além da perda de água de hidratação, três etapas de perda de massa: uma entre 240 e 270 °C, outra entre 270 e 370 °C que correspondem à decomposição térmica da lactose, facilmente observada na curva DSC pelo início de um evento exotérmico em 240°C. A quarta etapa, a partir de 370 °C ( $\Delta m = 20,49\%$ ) corresponde à carbonização do material (Oliveira *et al.*, 2005).

As curvas DSC das misturas PS:LC e BG:LC não apresentaram variações nos picos de fusão dos ativos, apenas variação na entalpia de fusão, o que é coerente devido à diminuição das quantidades de ativos (Tabela 3.4). Isso indica que também neste caso, não ocorrem interações entre os ativos e o excipiente. (PS:LC;  $\Delta H = 134,38 \text{ J.g}^{-1}$  e BG:LC;  $\Delta H = 145,48 \text{ J.g}^{-1}$ ). Para a mistura BG:LC, a pequena variação da entalpia molar de fusão em relação ao BG se deve possivelmente à diferença entre a quantidade considerada no cálculo de  $\Delta H_{F,m}$  e o valor real na mistura.

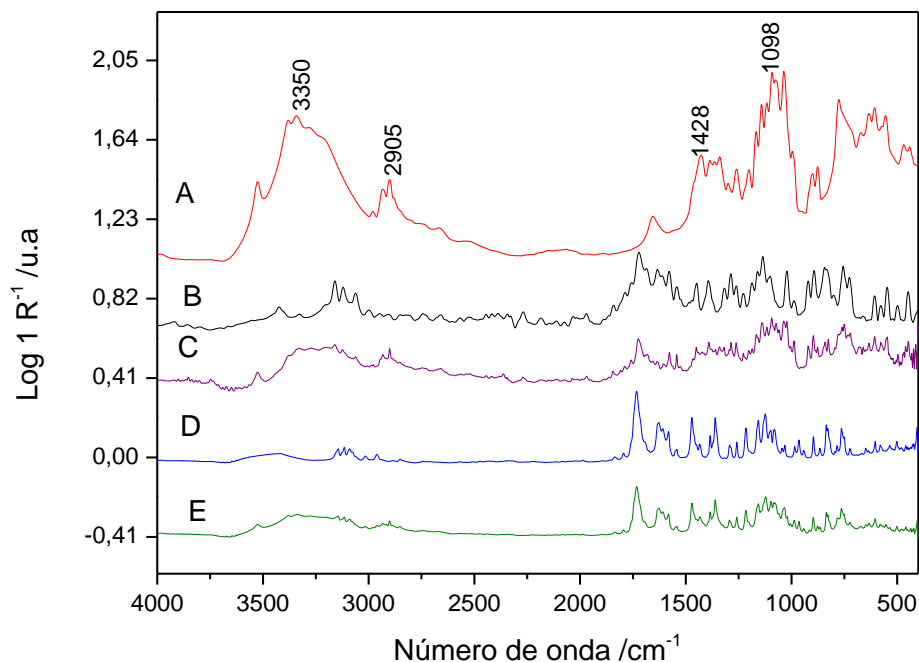
Todos valores de perda de massa referentes às curvas TG da LC e das misturas binárias com PS e BG, bem como os valores de entalpia, estão dispostos na Tabela 3.4.

**Tabela 3.4** Dados termoanalíticos de LC e suas misturas binárias com PS e BG.

Amostra	Evento	Fx. de Temp. (°C)	Perda de massa (%)	$\Delta H_F$ (J.g <sup>-1</sup> )	$\Delta H_{m, F}$ (KJ.mol <sup>-1</sup> )
LC	A	135-160	4,55		
	B	240-270	10,48		
	C	270-370	56,87		
	D	370-550	20,49		
PS:LC	A	130-278	70,55	134,38	19,42
	B	280-340	8,50		
BG:LC	A	170-275	49,54	105,48	26,50
	B	275- 340	29,32		

Diferente do que foi observado para os outros excipientes apresentados anteriormente, as curvas TG e DTG das misturas PS:LC mostraram que a primeira etapa de decomposição apresenta uma porcentagem maior que 50% ( $\Delta m = 70\%$ ). Isso se deve ao fato de que o intervalo de temperatura de decomposição do PS está dentro daqueles observados nas etapas de decomposição da lactose e devido a isso estão superpostos nas curvas TG e DTG da mistura. Para a mistura BG:LC observa-se duas etapas de decomposição (Tabela 3.4).

Os espectros FTIR da LC e das respectivas misturas com os ativos PS e BG estão apresentados na Figura 3.21.



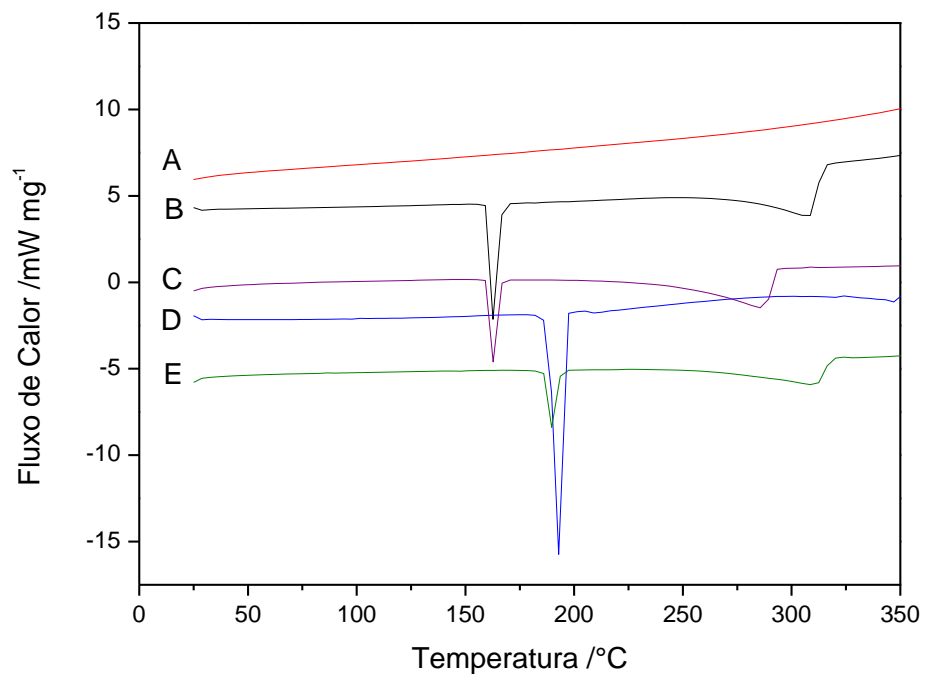
**Figura 3.21** Espectros FTIR dos compostos: (A) LC, (B) PS, (C) PS:LC, (D) BG e (E) BG:LC.

No espectro da LC observa-se uma banda larga em  $3350\text{ cm}^{-1}$  (Figura 3.21A) referente ao estiramento das ligações O-H dos grupos hidroxila presente na estrutura da lactose. Pode-se observar em  $2936\text{ cm}^{-1}$  uma banda intensa que corresponde ao estiramento de ligações C-H e em  $1415\text{ cm}^{-1}$  tem-se uma banda referente à deformação angular das mesmas ligações. Em  $1098\text{ cm}^{-1}$  encontra-se uma banda correspondente a estiramento de ligações C-O (Lopes *et al.*, 2004; Silverstein, 2006).

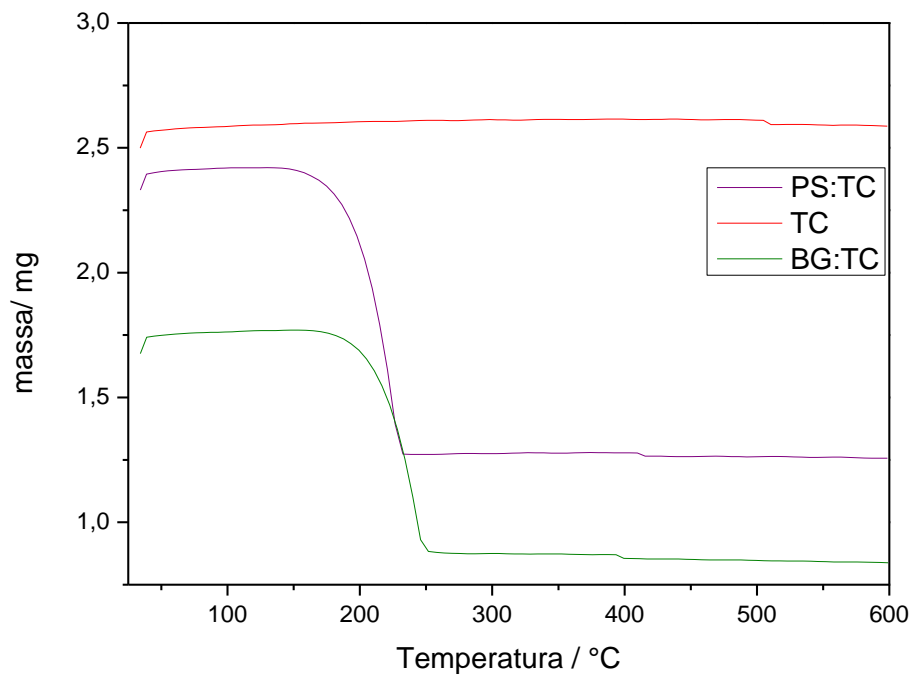
Os espectros das misturas (Figura 3.21C e 3.21E) apresentam características que correspondem à soma dos espectros dos compostos individuais, onde observa-se a sobreposição de algumas bandas dos princípios ativos (região de  $1170\text{ a }900\text{ cm}^{-1}$ ) por bandas da LC. Logo, o que se observa é que, de acordo com os resultados obtidos pelos espectros FTIR, tem-se neste caso apenas mistura física entre PS, BG e LC.

### 3.4.5. Talco

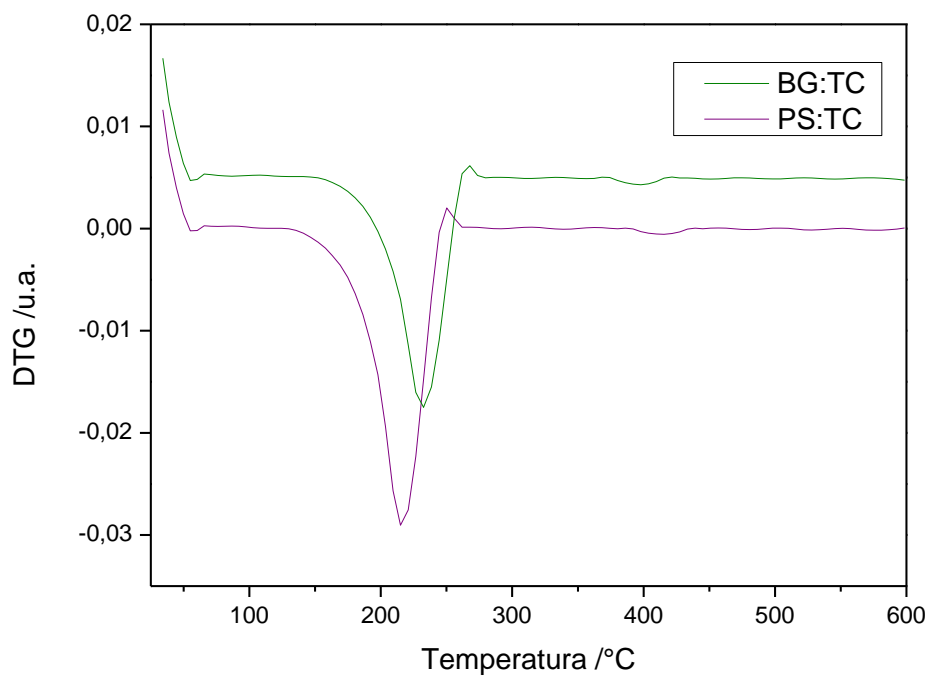
As curvas DSC (Figura 3.22A) e TG (Figura 3.22A) do talco mostram que trata-se de uma substância estável termicamente até 600 °C, de modo que nenhum evento e nenhuma perda de massa são observados. A curva DSC das misturas PS:TC e BG:TC deixam claro a permanência das mesmas características endotérmicas e exotérmicas dos fármacos, indicando assim que não há incompatibilidades entre eles.



**Figura 3.22** Curvas DSC comparativas entre (A) TC (2,20 mg); (B) PS; (C) PS:TC (2,13 mg); (D) BG e (E) BG:TC (2,10 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.23** Curvas TG de TC (2,70 mg), PS:TC (2,33 mg) e BG:TC (1,97 mg) em atmosfera de ar sintético.



**Figura 3.24** Curvas DTG de TC, PS:TC e BG:TC.

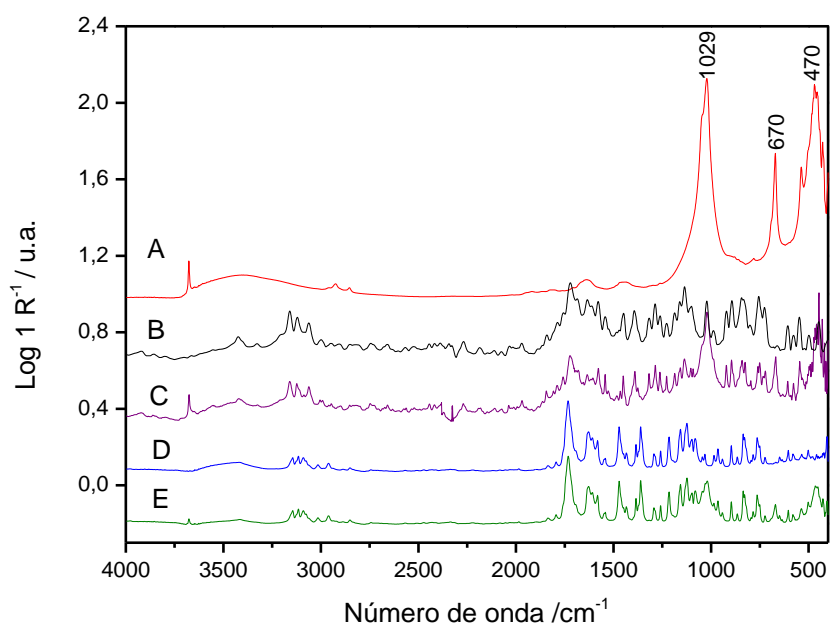
As curvas TG e DTG das misturas (Figuras 3.19 e 3.20) mostram apenas uma etapa de perda de massa referente à decomposição dos princípios ativos. Este fato confirma os resultados da análise por DSC e mostra que os princípios ativos se decompõem como se estivessem isolados, o que comprova tratar-se apenas de misturas físicas.

Todos valores de perda de massa referentes às curvas TG das misturas binárias do talco com PS e BG, bem como os valores de entalpia, estão dispostos na Tabela 3.5.

**Tabela 3.5** Dados termoanalíticos das misturas binárias com PS:TC e BG:TC.

Amostra	Evento	Fx. de Temp. (°C)	Perda de massa (%)	$\Delta H_F$ (J.g <sup>-1</sup> )	$\Delta H_{m,F}$ (KJ.mol <sup>-1</sup> )
TC	-	-	-	-	-
PS:TC	A	141-250	49,27	131,38	22,98
BG:TC	A	163-267	53,36	161,94	31,02

Na Figura 3.21 estão apresentados os espectros FTIR do TC e das misturas PS:TC e BG:TC.



**Figura 3.25** Espectros FTIR dos compostos: (A) TC, (B) PS, (C) PS:TC, (D) BG e (E) BG:TC.

Pode-se observar que o espectro FTIR do TC (Figura 3.25A) mostra uma banda larga na região entre 3599 e 3180  $\text{cm}^{-1}$  relativa ao estiramento das ligações O-H dos grupos Si-OH. Na região de 1029  $\text{cm}^{-1}$  observa-se uma banda forte referente ao estiramento das ligações O-Si-O e na região entre 670 a 500  $\text{cm}^{-1}$  são observadas bandas relativas à deformação angular dessas mesmas ligações (Nakamoto, 1997).

Os espectros das misturas apresentam-se como a soma dos espectros das substâncias individuais, o que confirma os resultados obtidos pela análise térmica que se tem uma mistura física entre PS, BG e TC.

### **3.5. Conclusões**

Foi possível observar que, de acordo com os resultados obtidos através das técnicas termoanalíticas, nenhum dos excipientes estudados interagem com os ativos, estando estes aptos a serem utilizados em formulações contendo psoraleno e bergapteno.

As técnicas TG e DSC mostraram-se muito úteis para prever quaisquer interações entre os ativos e excipientes. Esta deveria constituir uma das primeiras etapas no estudo e desenvolvimento de uma pré-formulação, uma vez que os resultados obtidos são seguros, devido à sensibilidade das técnicas e utilizam uma quantidade muito pequena de amostra, além do curto tempo de análise.

## **CAPÍTULO 4**

### **ESTUDO DO COMPORTAMENTO TÉRMICO DO EXTRATO DA PLANTA *BROSIMUM GAUDICHAUDII* TRÉCUL (MORACEAE)**

#### **4.1. Introdução**

A planta *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) é a principal planta brasileira que contém as furanocumarinas psoraleno e bergapteno em sua composição. Assim, tem-se o medicamento que é produzido utilizando-se o extrato da raiz desta planta que, segundo estudos, é a parte que apresenta maior quantidade de psoraleno e bergapteno (Pozetti, 2005).

As técnicas de análise térmica tem sido amplamente utilizadas no controle de qualidade de matérias-primas de origem vegetal, sendo um conjunto de técnicas útil para estimar parâmetros de como o teor de umidade e teor de cinzas (Macedo *et al.*, 2002; Araújo *et al.*, 2006).

#### **4.2. Objetivo**

Avaliar o comportamento térmico do extrato seco da planta *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) (EP) através das técnicas TG e DSC.

### 4.3. Metodologia

O extrato da raiz da planta *Brosimum gaudichaudii* Trécul (EP) foi obtido pelo método de percolação alcoólica que foi otimizado por Martins e colaboradores (2011). O método de secagem utilizado foi liofilização.

A padronização do extrato, ou seja, a determinação das quantidades de psoraleno e bergapteno foi realizada utilizando-se um método desenvolvido por Martins e colaboradores (2011) que consiste em um Sistema Cromatográfico da marca Waters® modelo HPLC Alliance® com módulo de separação e2695, detector de arranjo de diodos (PDA) 2998 e sistema de processamento de dados Enpower 3. As separações cromatográficas foram conduzidas em coluna LUNA 5 µ C8, 250X4.6 mm (Phenomenex®). A fase móvel empregada foi uma mistura de acetonitrila a 45% (v/v) e 55% (v/v) de água milli-Q sob fluxo isocrático de 0,6 mL.min<sup>-1</sup> por 30 min e detecção a 219 nm (até 14 min) e 243 nm (até o término da análise) (Martins et al., 2011).

As curvas TG foram obtidas em um equipamento TGA/SDTA modelo 851<sup>e</sup> Mettler Toledo e as curvas DSC em um equipamento modelo 822<sup>e</sup> da Mettler Toledo. Ambas sob as mesmas condições descritas no Capítulo III: 25 a 600 °C (TG) e 25 a 300 °C (DSC) com razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, atmosfera de ar sintético, com fluxo de 50 mL.min<sup>-1</sup> e massa de amostra, neste caso, de 3 mg.

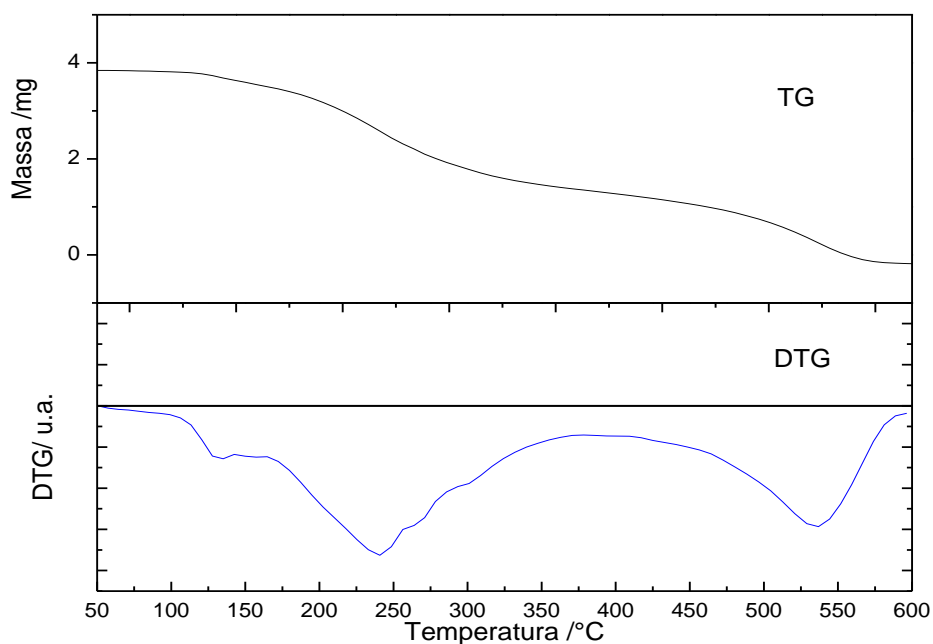
### 4.4. Resultados e Discussões

O extrato da raiz da planta *Brosimum gaudichaudii* Trécul (EP), obtido por percolação alcoólica, foi padronizado por HPLC e os resultados mostraram que apresenta 1,01% de psoraleno e 2,94% de bergapteno em sua composição.

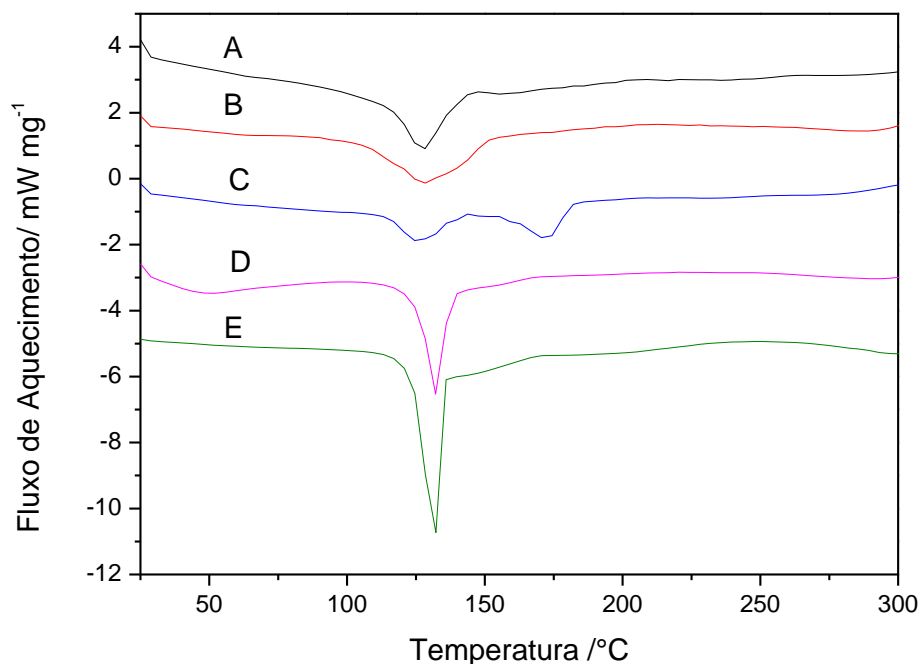
As curvas TG e DTG do extrato (Figura 4.1) apresentam uma perda de massa entre 70 e 140 °C ( $\Delta m = 9,25\%$ ), correspondente à perda de substâncias voláteis. De acordo com a curva TG o extrato não apresenta umidade e que antes de 550 °C todo material já havia sido decomposto.

Entre 150 e 350 °C registra-se uma perda de massa de cerca de 55%, que corresponde à decomposição das furanocumarinas e outras substâncias orgânicas presentes no extrato. Segundo revisão feita por Pozetti (2005), o extrato de *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) apresenta, além de psoraleno e bergapteno, outras cumarinas como umbeliferona e (2 S, 3 R)-3-Hidroximarmesina em sua composição.

A curva DSC do EP (Figura 4.2) mostra um evento endotérmico entre 100 e 150 °C ( $T_{\text{pico}} = 130$  °C). Este evento está relacionado à perda de substâncias voláteis, como mostrado pelas curvas TG e DTG, mas também pode ser atribuído à fusão da mistura de furanocumarinas presentes no extrato, visto que estas, quando misturadas apresentam intervalo de fusão a uma temperatura inferior à dos compostos isolados, como mostrado anteriormente.



**Figura 4.1** Curvas TG e DTG do extrato de *B. gaudichaudii* Trécul (Moraceae) (3,00 mg).



**Figura 4.2** Curvas DSC de: (A) EP (2,90 mg); (B) mistura EP:PS (2:1) (2,96 mg); (C) mistura EP:BG (2:1) (3,02 mg); (D) mistura EP:PS:BG (1:1:1) (2,94 mg) e (E) mistura EP:PS:BG (1:1:2).

Para verificar este fato fez-se a adição de padrões de psoraleno e bergapteno ao extrato. Foi observado que quando se mistura extrato e psoraleno na proporção 2:1 (Figura 4.2B) tem-se um aumento na entalpia do evento endotérmico observado na curva do extrato, passando de  $180 \text{ J.g}^{-1}$  (EP) para  $216 \text{ J.g}^{-1}$  da mistura. O aumento de energia para a ocorrência do evento após a adição do padrão de psoraleno indica a possibilidade de que no intervalo de temperatura observado ocorre também fusão de compostos furanocumarínicos que estão presentes no extrato.

Quando se faz a mistura de extrato e bergapteno na proporção 2:1, respectivamente, observa-se a ocorrência de outro evento endotérmico, além daquele observado para o extrato puro (Figura 4.2C). Este segundo evento próximo de  $170 \text{ °C}$  ( $\Delta H = 106,58 \text{ J.g}^{-1}$ ) é atribuído à fusão da porção do bergapteno que não interagiu com o psoraleno e outras furanocumarinas presentes no extrato. Isso é razoável pelo fato de que há uma quantidade de bergapteno superior à de psoraleno no extrato. Logo, parte do bergapteno

interagiu com o psoraleno presente e a parte restante fundiu a uma temperatura maior do que a temperatura de fusão observada para a mistura. Porém quando se aumenta a quantidade de bergapteno (Figura 4.2E), não se observa a separação de eventos observada na Figura 4.2C, devido às interações entre o psoraleno e o bergapteno adicionados.

A curva DSC da mistura ternária EP:PS:BG (1:1:1) (Figura 4.2D) mostra um evento entre 110 e 145 °C ( $T_{\text{pico}}=132$  °C,  $\Delta H = 173$  J.g<sup>-1</sup>) que, de acordo com o que foi discutido, refere-se à fusão da mistura psoraleno, bergapteno que foram adicionados e às outras substâncias existentes no extrato.

#### **4.5. Conclusões**

Através do estudo termoanalítico do extrato liofilizado da planta *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) foi possível observar que a curva DSC mostrou um evento endotérmico que indicou, a partir da adição dos padrões, se tratar da fusão da mistura de psoraleno, bergapteno e possivelmente outras furanocumarinas presentes no extrato da planta. Os resultados mostraram que o extrato não apresenta umidade e que a decomposição de todo material ocorreu antes de 550 °C.

Os métodos termoanalíticos mostraram-se importantes para caracterização do extrato de *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) e estes ensaios deveriam ser incluídos no protocolo de identificação e caracterização de extratos vegetais, visto que os resultados obtidos são rápidos, seguros e de mais simples execução do que ensaios convencionais.

## **CAPÍTULO 5**

### **ESTUDO DO PERFIL TERMOANALÍTICO DO MEDICAMENTO “A”, COMERCIALIZADO PARA A TERAPÊUTICA DO VITILIGO**

#### **5.1. Introdução**

Todas as transformações físicas ou químicas ocorrem com variação de energia. Logo, quando uma substância sofre qualquer transformação em função da temperatura, esta é registrada pela DSC (Senatra *et al.*, 1998). Isso faz com que a DSC seja uma técnica amplamente utilizada desde a determinação da pureza até a identificação de substâncias, uma vez que cada substância apresenta transições de fases em temperaturas específicas (Digo *et al.*, 2004).

O uso da DSC na avaliação do comportamento térmico de medicamentos comerciais é extremamente útil para identificar os princípios ativos, o tipo de polimorfo empregado, no caso de princípios ativos com mais de uma estrutura cristalina e, conseqüentemente, a equivalência das formulações.

#### **5.2. Objetivo**

O objetivo desta etapa do trabalho foi avaliar o perfil termoanalítico do medicamento “A”, comercializado para a terapêutica do vitiligo.

### 5.3. Metodologia

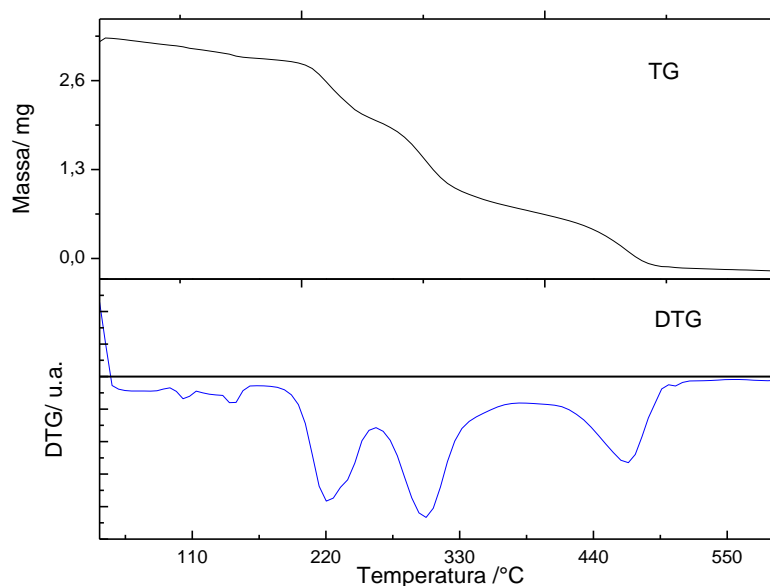
O medicamento “A” (Med A) foi obtido comercialmente. Primeiramente, foi removido com espátula todo revestimento polimérico do comprimido. Em seguida, foi então pulverizado em almofariz de ágata para evitar quaisquer interações com o mesmo. A amostra foi então submetida a análise por TG e DSC sob as mesmas condições descritas no Capítulo 3.

### V.4. Resultados e Discussões

De acordo com a bula o medicamento A é composto por: Extrato seco de *Brosimum guadichaudii* Trécul (equivalente a 20 mg de Psoraleno e 24 mg de Bergapteno) para 400 mg que é a massa do comprimido; e os excipientes: Estearato de Magnésio, Talco, Amido glicolato de Sódio e Amido.

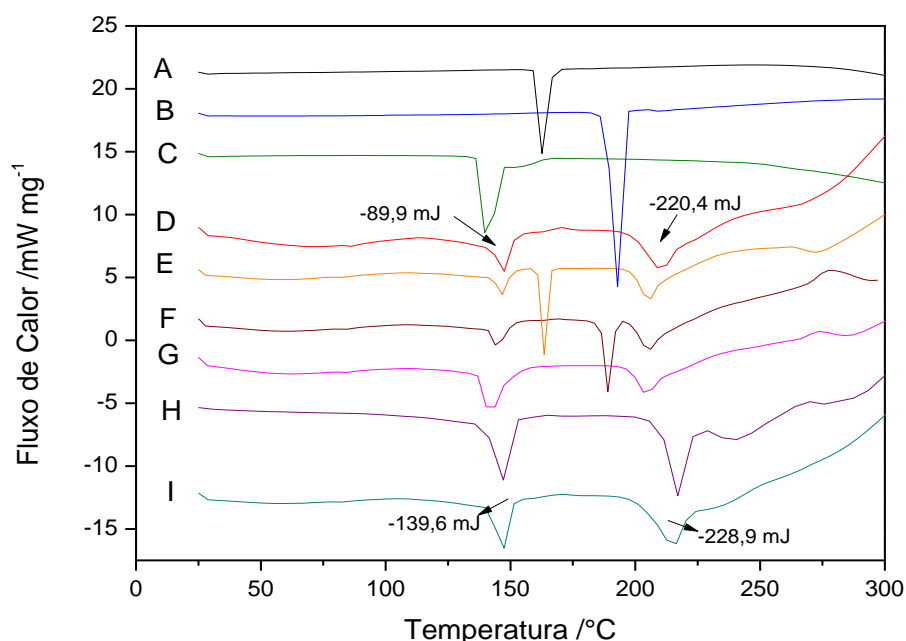
Inicialmente, foi realizado o doseamento do Med A, por HPLC, e os resultados mostraram que as quantidades de psoraleno e bergapteno estão de acordo com as descritas na bula do medicamento, ou seja, 20 mg de PS e 24 mg de BG em cada comprimido.

A curvas TG e DTG do Med A estão apresentadas na Figura 5.1 e a curva DSC na Figura 5.2D.



**Figura 5.1** Curvas TG e DTG do Med A (3,16 mg).

As curvas TG e DTG do Med A mostram eventos de perda de massa que correspondem à decomposição dos componentes da formulação farmacêutica. As curvas mostram entre 100 e 150 °C a perda de massa é atribuída à desidratação. Próximo de 210 °C observa-se o início da decomposição do medicamento ( $\Delta m = 29,90\%$ ).



**Figura 5.2** Curvas DSC comparativas entre (A) PS; (B) BG; (C) mistura de padrões PS:BG, (D) Med A (3,20 mg); (E) mistura de Med A:PS (2,98 mg); (F) mistura de Med A:BG (3,04 mg); (G) mistura de Med A:PS:BG (3,01 mg); (H) LC; (I) mistura de Med A:LC (2,97 mg).

A curva DSC do medicamento apresenta um pico endotérmico próximo de 150 °C e outro em 212 °C. A princípio, observando-se as curvas DSC do psoraleno e do bergapteno separadamente (Figura 5.2A e 5.2B), esses picos poderiam ser atribuídos à fusão dos ativos psoraleno e bergapteno presentes no medicamento.

Porém, como foi observado anteriormente, a mistura PS:BG apresenta um único evento de fusão que ocorre em 140 °C. No entanto, fez-se a adição dos padrões PS e BG ao Med A na proporção 2:1 (Med A:

padrão) e também a adição dos dois padrões numa mesma mistura com o Med A.

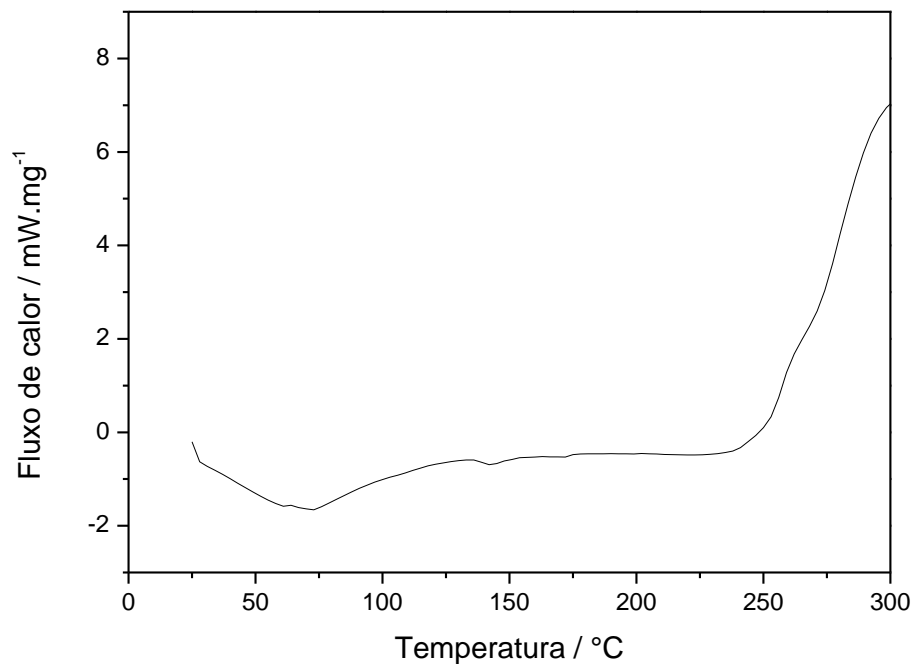
Foi observado que quando se faz a mistura de cada padrão com o medicamento a fusão dos ativos ocorre na mesma temperatura de quando estes padrões estão puros e não ocorre aumento na área dos picos encontrados na curva DSC do Med A (Figura 5.2E e 5.2F).

Para a curva DSC da mistura dos dois padrões com o medicamento (Figura 5.2G) observa-se um deslocamento na temperatura do primeiro pico do medicamento para 144 °C e um aumento da área do mesmo, devido ao fato de a fusão dos dois compostos, quando misturados, ocorrer na mesma faixa de temperatura do primeiro evento observado no Med A. Além disso, não ocorre aumento significativo na área do segundo pico do medicamento, o que deixa evidente que no primeiro pico da curva referente à mistura dos dois padrões com o medicamento tem-se eventos diferentes que ocorrem na mesma faixa de temperatura. Se os eventos do medicamento fossem atribuídos à fusão dos ativos separadamente, as áreas dos dois picos deveriam aumentar, já que a entalpia é proporcional à quantidade de amostra.

Quando se compara o perfil da curva do Med A com o de alguns excipientes comumente utilizados na produção de medicamentos de administração oral, pode-se observar que o perfil se assemelha muito ao da lactose (Figura 5.2H), cuja presença não consta na bula do medicamento.

Assim, foi feita a adição de lactose na amostra do medicamento na proporção 2:1 (Med A:LC) e observou-se que houve um aumento significativo na área dos picos do medicamento, como mostra a Figura 5.2I. Portanto, o aumento da área dos picos, ou seja, da energia necessária para ocorrer o evento, prova que ao se adicionar lactose ao medicamento, aumentou-se a quantidade de uma substância que já estava presente na amostra.

Além disso, foi feita uma curva DSC com a mistura de todos os componentes que estão listados na bula do medicamento e nas mesmas proporções para se observar o perfil (Figura 5.3).



**Figura 5.3** Curva DSC da mistura dos componentes citados na bula do Med A nas mesmas proporções de fabricação.

Observando-se a curva da Figura 5.3 nota-se que o perfil não se assemelha ao da curva obtida para o Med A, o que é mais uma evidência da presença de um componente que não está descrito na bula que, de acordo com o que foi estudado, trata-se da lactose.

Portanto, as análises DSC deixam clara a presença de lactose na formulação do Med A, o que comprova a omissão desta informação pelo fabricante do medicamento. Esta omissão pode ser perigosa uma vez que o medicamento pode ser consumido por pessoas que apresentam deficiência na digestão da lactose, ou também chamada intolerância a lactose.

## 5.5. Conclusões

As análises de DSC possibilitaram a investigação da composição do Med A, comercializado para a terapêutica do vitiligo, o que mostrou que a DSC é uma técnica que pode ser utilizada na identificação de substâncias.

A comparação da curva DSC do medicamento com a curva da lactose, bem como o aumento da entalpia dos picos do medicamento quando foi feita a adição de lactose, deixou evidente a presença deste composto no medicamento.

## CAPÍTULO 6

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D.; The effect of chemical modification on starch studied using thermal analysis. *Thermochimica Acta*. v. 324, p. 1-8, 1998.

AGGARWAL, P.; DOLLIMORE, D.; Degradation of starchy food material by thermal analysis. *Thermochimica Acta*. v. 357, p. 57-63, 2000.

ALI, J.; PRAMOD, K; TAHIR, M. A.; Current remedies for vitiligo. *Autoimmunity Reviews*. v. 9, p. 516-520, 2010.

ANBAR, T. S.; EL-SAWY, A. E.; ATTIA, S. K.; BARAKAT, T. M.; MOFTAH, N. H.; EL-AMMAWY, S. T.; ABDEL-RAHMAN, A. T.; EL-TONSY, M. H. Effect of PUVA therapy on melanocytes and keratinocytes in non-segmental vitiligo: histopathological, immuno-histochemical and ultrastructural study. *Photodermatology, Photoimmunology and Photomedicine*. v. 28, p. 17-25, 2012.

ARAÚJO, A. A. S.; MERCURI, L. P.; SEIXAS, R. S.; STORPIRTIS, S.; MATOS, R. J. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v. 42, p. 269-276, 2006.

BERNARDI, L. S.; OLIVEIRA, P. R.; MURAKAMI, F. S.; SILVA, M. A. S.; BORGMANN, S. H. M.; CARDOSO, S. G. Characterization of venlafaxine hydrochloride and compatibility studies with pharmaceutical excipients. *J. Therm. Anal. Calorim.* v. 97, p. 729-733, 2009.

BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. *J. Excipients and Food Chem.* v. 1, p. 1-24, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 14 de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. D.O.U. Brasília, 5 de abril. 2010.

BRUNI, G.; BERBENNI, V.; MILANESE, C.; GIRELLA, A.; MARINI, A.; Drug-excipient compatibility studies in binary and ternary mixtures by physico-chemical techniques. J. Therm. Anal. Calorim. v. 102, p. 119-123, 2010.

CARIO-ANDRÉ, M.; PAIN, C.; GAUTHIER, Y.; TAIEB, A. A. The Melanocytorrhagic hypothesis of vitiligo tested on pigmented, stressed, reconstructed epidermis. Pigment Cell Res. v. 20, p. 385-393, 2007.

CLAS, S. D.; DALTON, R. C.; HANCOCK, B. C. Differential Scanning Calorimetry: application in drug development. PSTT. v. 2, p. 311-320, 1999.

CONWAY, B. R.; NEP, E. I. Preformulation studies on grewia gum as a formulation excipient J Therm Anal Calorim. DOI 10.1007/s10973-011-1782-4, 2011.

COSTA, R. S.; NEGRÃO, C. A. B.; CAMELO, S. R. P.; RIBEIRO-COSTA, R. M.; BARBOSA, W. L. R.; COSTA, C. E. F.; SILVA, J. O. C.; Investigation of thermal behavior of *Heliotropium indicum* L. lyophilized extract by TG and DSC. J. Therm. Anal. Calorim. DOI 10.1007/s10973-011-2088-2, 2011.

CUNHA, L. C.; LEÃO, R. A.; PARENTE, L. M. L.; CASTRO, L. C. M.; CHAUL, A.; CARVALHO, H. E.; RODRIGUES, V. B.; BASTOS, M. A. Avaliação Clínica Toxicológica Preliminar do Viticromin em Pacientes com Vitiligo. Revista Eletrônica de Farmácia. v. 2, p. 15-23, 2005.

CUNHA, L. C.; PAULA, J. R.; SÁ, V. A.; AMORIM, M. E. P.; BARROS, I. C. M.; BRITO, L. A. B.; SILVEIRA, N.; Acute toxicity of *Brosimum gaudichaudii* Trécul. root extract in mice: determination of both approximate and median lethal doses. Brazilian Journal of pharmacognosy. v. 18, p. 532-538, 2008.

DESAI, S. R.; SHAIKH, M. M.; Dharwadkar, S. R. Preformulation compatibility studies of etamylate and fluconazole drugs with lactose by DSC. J. Therm. Anal. Calorim. v. 71, p. 651-658, 2003.

DIGO, P. H.; PINTO, S. S.; RAMOS, J. J. M. Thermodynamic and kinetic behavior of salicylalicylic acid – Calorimetric study. J Therm Anal Calorim. v. 77, p. 893-904, 2004.

EPPLÉ, M.; FIGURA, L. O. Anhydrous  $\alpha$ -lactose: a study with DSC and TXRD. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. v.44, p. 45-53, 1995.

FITZPATRICK, T. B.; PATHAK, M. A.; Basic Considerations of Psoralens part IV: Historical Aspects of Methoxsalen and other furocoumarins. *The Journal of Investigative Dermatology*. p. 229-231, 1958.

GIRON, D. Contribution of methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals part 2. *PSTT*. v. 1, p. 262-268, 1998.

GIRON, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. *J. Therm. Anal. Calorim.* v. 68, p. 335-357, 2002.

GIUFFRIDA, F.; DESTILLATS, F.; EGART, M. H.; HUG, B.; GOLAY, P.; SKIBSTED, L. H. Dionisi F. Activity and thermal stability of antioxidants by differential scanning calorimetry and electron spin resonance spectroscopy. *Food Chemistry*. 2006.

GOHEL, M. C.; PARIKH, R. K.; BRAHMBHATT, B. K.; SHAH, A. R. Preparation and Assessment of Novel Coprocessed Superdisintegrant Consisting of Crospovidone and Sodium Starch Glycolate: A Technical Note. *AAPS PharmSciTech*.v. 8, 2007.

GOMBÁS, Á.; SZABÓ-RÉVÉZ, P.; KATA, M.; REGDON, G.; EROS, I. Quantitative determination of crystallinity of  $\alpha$ -lactose monohydrate by DSC. *J Therm Anal Calorim.* v. 68, p. 503-510, 2002.

HAINES, P J. *Thermal Methods of Analysis*. Nova Iorque. 1995. 286 p.

HIRASHIMA, M.; TAKAHASHI, R.; NISHINARI, K. The gelatinization and retrogradation of cornstarch gels in the presence of citric acid. *Food Hydrocolloids*. v. 27, p. 390-393, 2012.

IONASHIRO, M. *Giolito; Fundamentos de Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial, Calorimetria Exploratória Diferencial*. São Paulo, Giz Editorial, 2005. 80 p.

JÓJÁRT-LACZKOVICH, O.; SZABÓ-RÉVÉZ, P. Amorphization of a crystalline active pharmaceutical ingredient and thermoanalytical measurements on this glassy form. *J. Therm. Anal. Calorim.* v. 102, p. 243-247, 2010.

KANDIL, E. Treatment of localized vitiligo with intradermal injection of triamcinolone acetonide. *Dermatologica*. v.140, p. 195-206, 1970.

KHOVACS, S. R. Vitiligo. *Journal of the American Academy of Dermatology*. v. 38, p. 647-668, 1998.

KWINTER, J.; PELLETIER, J.; KHAMBALIA, A.; POPE, E. High-potency steroid use in children with vitiligo: a retrospective study. *J. Am. Acad. Dermatol.* v. 56, p. 236-241, 2007.

LITWINIENKO, G.; KASPRZYCKA-GUTTMAN, T.; JAMANEK, D.; DSC study of antioxidant properties of dihydroxyphenols. *Thermochimica Acta.* v. 331, p. 79-86, 1999.

LOPES, W. A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Quim Nova.* v. 27, p. 670-673, 2004.

MACEDO, R. O.; ARAGÃO, C. F. S.; SOUZA, F. S., BARROS, A. C. S. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. *Rev Bras Farmacog.* v. 12, p. 60-62, 2002.

MARTINS, F. S.; MORAES, C. S. S.; BARA, M. T. F.; PAULA, J. R.; CONCEIÇÃO, E. C. Obtainment and characterization of raw material of *Brosimum gaudichaudii* Trecul (Moraceae). *Journal of Pharmacy Research.* v. 4, p. 3772-3775, 2011.

MAXIMIANO, F. P.; COSTA, G. H. Y.; SOUZA, J.; CUNHA-FILHO, M. S. S.; Caracterização físico-química do fármaco anichagásico benznidazol. *Química Nova.* v. 33, p. 1714-1719, 2010.

MORA, C. P.; CIRRI, M.; MURA, P. Differential scanning calorimetry as a screening technique in compatibility studies of DHEA extended release formulations. *J Pharm Biomed Anal.* v. 42, p. 3–10, 2006.

NAKAGAKI, R.; KITAMURA, N.; KOHTANI, S. Molecular aspects of furocoumarin reaction: Photophysics, photochemistry, photobiology, and structural analysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology.* v. 6, p. 168-185, 2005.

NAKAMOTO, K. Infrared and Raman Spectra of inorganic and coordination compounds, 1997.

NAUGHTON, G. M.; NORRIS, D. A.; KISSINGER, R. M. Evidence for immunologic mechanisms in human vitiligo: patients sera induce damage to human melanocytes in vitro by complement-mediated damage and antibody-dependent cellular toxicity. *J. Invest Dermatol.* v. 90, p.783-789, 1998.

OLIVEIRA, G. G. G.; FERRAZ, H. G.; MATOS, J. S. R. Thermoanalytical study of glibenclamide and excipients. *J. Therm. Anal. Calorim.* v. 79, p. 267-270, 2005.

PANI, N. R.; NATH, L. K.; ACHARYA, S.; BHUNYIA, B. Application of DSC, IST, and FTIR study in the compatibility testing of nateglinide with different pharmaceutical excipients. J Therm Anal Calorim DOI 10.1007/s10973-011-1299-x, 2011.

PEREIRA, R. N.; VALENTE, B. R.; CRUZ, A. P.; FOPPA, T.; MURAKAMI, F. S.; SILVA, M. A. S. Thermoanalytical Study of Atenolol and Commercial Tablets. Lat. Am. J. Pharm.v. 26, p. 382-6, 2007.

PERES-FILHO, M. J.; GAETI, M. P. N.; OLIVEIRA, S. R.; MARRETO, R. N.; LIMA, E. M. Thermoanalytical investigation of olanzapine compatibility with excipients used in solid oral dosage forms. J. Therm. Anal. Calorim. v. 104, p. 265-260, 2011.

PICKER-FREYER, K. M.; SCHMIDT, A. G. Does Temperature increase Induced by Tableting contribute to tablet quality? Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. v. 77, p. 531–539, 2004.

PIFFERI, G.; SANTORO, P.; PEDRANI, M. Quality and Functionality of Excipients. Il Farmaco. v. 54, p. 1-14, 1999.

POMERANTSEV, A. L.; RODIONOVA, O. Y. Hard and soft methods for prediction of antioxidants' activity based on the DSC measurements. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. v. 79, p. 73-83, 2005.

POZETTI, G. L. *Brosimum gaudichaudi* Trecul (Moraceae): da planta ao medicamento. Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl. v. 26, p.159-166, 2005.

PROCÓPIO, J. V.; SOUZA, V. G.; COSTA, R. A.; SOUZA, F. S.; MACEDO, R. O. Application of thermal analysis and pyrolysis coupled to GC/MS in the qualification of simvastatin pharmaceutical raw material. J. Therm. Anal. Calorim. DOI 10.1007/s10973-010-1274-y, 2011.

RANGANATH, Y. S.; BABU, V. H.; SANDEEP, G.; PARAMESHWAR, R. Synthesis and evaluation of some novel furocoumarin derivatives for radical scavenging profile and cytotoxic studies. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. v. 3, p. 62-68, 2011.

ROUQUEIROL, J. Development in nomenclature in: Handbook of thermal analysis. 2006. p. 21-62.

SALGADO, H. R. N.; RIBEIRO, Y. A.; SCHAPOVAL, E. E. S. Análise térmica de esparfloxacino. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. v. 26, p. 119-123, 2005.

SANTILLAN, R. L.; ROJAS-LIMA, S.; DOMOANGUEZ, M.; GUTIERREZ, A.; Furocoumarins of three species of the genus *Dorstenia*. *Photochemistry*. v. 39, p. 863-868, 1999.

SCHNITZLER, E.; IONASHIRO, M.; LACERDA, L. G.; BENINCA, C.; DEMIATE, I. M. *Eclética Química*. Thermal behavior of corn starch granules modified by acid treatment at 30 and 50 °C. v. 33, p. 13-18, 2008.

SEGUNDO, A. S. G. *Mecanismos da terapia fotodinâmica em presença de peróxidos de hidrogênio*. São Paulo, 2007. 96p. Dissertação (Mestrado) - IPEN/USP.

SENATRA, D.; PRATESI, R.; PIERACCINI, L. DSC spectra as thermal fingerprints of percolative microemulsions. *J Therm Anal.* v 51, p. 79-90, 1998.

SERRANO-ANDRÉS, L.; GONZÁLEZ-LUQUE, R.; MRCHÁN, M.; SERRANO-PÉREZ, J.J. The family of furocoumarins: Looking for the best photosensitizer for phototherapy. *J Photochem Photobiol.* v.199, p. 34-41, 2008.

SERRANO-ANDRÉS, L.; GONZÁLEZ-LUQUE, R.; MRCHÁN, M.; SERRANO-PÉREZ. Singlet oxygen generation in PUVA therapy studied using electronic structure calculations. *J Photochem Photobiol.* v. 360, p. 85-96, 2009.

SHARPE, A. S.; CELIK, M.; NEWMAN, A. W.; BRITAIN, H. G. Physical Characterization of the Polymorphic Variations of Magnesium Stearate and Magnesium Palmitate Hydrate Species. *Structural Chemistry*. v. 8, p. 73-84, 1997.

SHETE, G.; KUMAR, L.; BANSAL, A. K. Solid state characterization of commercial crystalline and amorphous atorvastatin calcium samples. *AAPS Pharm Sci Tech.* v. 11, p. 598-609, 2010.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2006.

SIMON, P. S.; CIBULKOVA, Z.; LEHOCKY, P.; BALKO, J. Antioxidant activity of p-phenylenediamines studied by DSC. *Polymer Degradation and Stability*. v. 87, p. 479-486, 2005.

SIMS, J.L.; CARREIRA, J.A.; CARRIER, D.J.; CRABTREE, S.R.; EASTON, L.; HANCOCK, S.A.; SIMCOX, C.E. A New approach to accelerated drug-excipient compatibility testing. *Pharm. Dev. Technol.* v. 8, p. 119-126, 2003.

SMITH, G.; IBBOTSON, S. H.; DAWE, R. S.; DINKOVA-KOSTOVA, A. T.; WEIDLICH, S.; FARR, P. M.; FERGUSON, J.; WOLF, C. R. Glutathione S-transferase genotype is associated with sensitivity to psoralen-ultraviolet A photochemotherapy. *British Journal of Dermatology*. v. 166, p. 380-388, 2011.

SOUZA, N. A.; MEDEIROS, A. C. D.; SANTOS, A. F. O., MACEDO, R. O. Thermal stability of metronidazole drug and tablets. *J. Therm. Anal. Calorim.* v. 72, p. 535-538, 2003.

STEINER, D.; BEDIN, V.; MORAES, M. B.; VILLAS, R. T.; STEINER, T. Vitiligo. *Anais brasileiros de Dermatologia*. v.79, p. 335-351, 2004.

STULZER, H. K.; SILVA, M. A. S. Estudo da estabilidade de grânulos revestidos e comprimidos contendo captopril. *Acta Farm. Bonaerense*. v. 25, p. 497-504, 2006.

SZABO-RÉVÉSZ, P.; JOJART-LACXKOVICH, O.; Amorphization of a crystalline active pharmaceutical ingredient and thermoanalytical measurements on this glassy form. *J. Therm. Anal. Calorim.* v. 102, p. 243-247, 2010.

TERREAUX, C.; MAILLARD, M.; STOECKLI-EVANS, H.; Structure revision of a furanocoumarin from *Dorstenia contrajerva*. *Photochemistry*. v. 39, p. 645-647, 1995.

TITA, B.; FULIAS, A.; SZABADAI, Z.; RUSU, G.; BANDUR, G.; TITA, D. Compatibility study between ibuprofen and excipients in their physical mixtures. *J Therm Anal Calorim.* v. 105, p. 517-527, 2011.

TRAVEN, V. F. New Synthetic Routes to Furocoumarins and their Analogs: A Review. *Molecules*. v. 9, p. 50-66, 2004.

VARSHNEY, L.; FRANCIS, S.; MITRA, D. Thermal investigations on radiation processed natural medicinal products (ashwagandha, amla and hartiki). *J. Therm. Anal. Calorim.* v. 78, p. 821-829, 2004.

VILEGAS, W.; POZETTI, G. L. Coumarins from *Brosimum gaudichaudii* T. *Journal of Natural Products*. v. 36, p. 416-417, 1993.

WENDLANDT, W. W. *Thermal Analysis*, Nova Iorque, Willey, 1986. 814 p.

## **BREVE CURRÍCULO DA AUTORA**

Thaíza Carvalho da Rocha nasceu em Inhumas (GO), em 21/01/1987.

Ingressou no Curso de Bacharelado em Química da Universidade Federal de Goiás (UFG) no segundo semestre 2005.

Durante a graduação, foi integrante do programa ITI (Iniciação Tecnológica Industrial) por 18 meses entre 2007 e 2008, no Instituto de Química sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dra. Patrícia Pommé Confessori Sartoratto na área de Química Inorgânica, onde atuou no projeto: "Desenvolvimento de catalisadores bifuncionais de Fischer-Tropsch para a produção seletiva de gasolina/DECAFT"

Obteve o grau de Bacharel em Química pela UFG em 2009.

Em 2010 iniciou o mestrado em Química na Universidade Federal de Goiás com bolsa CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) sob orientação da Prof. Dra. Maria Inês Gonçalves Leles na área de Análise Térmica aplicada ao controle de qualidade de fármacos.