



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE CEILÂNDIA  
CURSO DE FARMÁCIA**

Theylor Ribeiro de Sousa

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCESSO EXTRATIVO DA CASCA  
DA RAIZ DE *MAMA-CADELA* PARA OBTENÇÃO DE  
FURANOCUMARINAS**

Brasília, 2018

Theylor Ribeiro de Sousa

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCESSO EXTRATIVO DA CASCA  
DA RAIZ DE *MAMA-CADELA* PARA OBTENÇÃO DE  
FURANOCUMARINAS**

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado como requisito parcial para  
obtenção do grau de Farmacêutico  
Generalista na Universidade de Brasília,  
Faculdade de Ceilândia.

**Orientadora: Prof. Dra. Lívia Cristina Lira de Sá Barreto**

**Co-orientadora: MsC. Wanessa de Souza Cardoso Quintão**

Brasília, 2018

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

SS0725d SOUSA, THEYLOR RIBEIRO DE  
DESENVOLVIMENTO DE UM PROCESSO EXTRATIVO DA RAIZ DE MAMA  
CADELA PARA OBTENÇÃO DE PURANOCUMARINAS / THEYLOR RIBEIRO  
DE SOUSA; orientador LÍVIA CRISTINA LIRA DE SÁ BARRETO; co  
orientador WANESSA DE SOUZA CARDOSO QUINTÃO. -- Brasília,  
2018.  
38 p.

Monografia (Graduação - FARMÁCIA) -- Universidade de  
Brasília, 2018.

1. FARMACOGNOSIA. 2. FARMÁCIA. 3. CIÊNCIAS DA SAÚDE. I.  
SÁ BARRETO, LÍVIA CRISTINA LIRA DE, orient. II. QUINTÃO,  
WANESSA DE SOUZA CARDOSO, co-orient. III. Título.

THEYLOR RIBEIRO DE SOUSA

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCESSO EXTRATIVO DA CASCA DA RAIZ DE  
MAMA-CADELA PARA OBTENÇÃO DE FURANOCUMARINAS**

**BANCA EXAMINADORA**

---

ORIENTADORA: Dra. LÍVIA CRISTINA LIRA DE SÁ BARRETO

---

CO-ORIENTADORA: MsC. WANESSA DE SOUZA CARDOSO QUINTÃO

---

Dr. BRENO NORONHA MATOS

---

MsC. NATANE CASTELO BRANCO DUARTE

BRASÍLIA – DF, 2018

*Dedico este trabalho à todas as pessoas  
acometidas pelo vitiligo e também ao meu  
querido avô Zequinha (in memoriam)*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar por ser meu sustento e auxílio em todos os momentos.

Aos meus pais, Valmides Machado de Sousa e Marli Dias Ribeiro, por toda dedicação e incentivo durante a minha vida. Ainda ao meu irmão, Danilo Ribeiro de Sousa, pela presença importante em todas as fases do meu processo de desenvolvimento humano.

À minha dileta companheira, Livia Beatriz Sena Neves, por todas as palavras e atitudes de apoio, carinho e confiança, não apenas em relação a este trabalho, mas a cada dia que estamos juntos aprendendo a dignidade do que é o amor.

Aos poucos e fieis amigos que fiz durante o curso, de modo especial ao Victor Hugo Queiroz Silva, Evelin Mota, Ana Carolina Bruno, Bábilla Nunes, ainda à Comunidade Católica da UnB no *campus* Ceilândia por me promover encontro com pessoas de boa fé e com o próprio Autor da fé.

Agradeço aos meus familiares *in vitae* e *in memoriam*, em nome dos meus avós maternos Onério “Genésio” Ribeiro Bonifácio e Ana Maria Mudesto Ferreira Dias, que sempre acreditaram e me incentivaram a conquistar os meus objetivos e lutar pelos meus sonhos.

Agradeço às minhas orientadoras, Livia Cristina Lira de Sá Barreto e Wanessa de Souza Cardoso Quintão, pela disponibilidade, oportunidade, auxílio e encorajamento para realizar esse magnífico trabalho.

Aos professores do colegiado de farmácia da Faculdade de Ceilândia (FCe) que me proporcionaram mais que o essencial para ser um excelente homem e profissional.

Aos membros da banca, Breno Noronha Matos e Natane Castelo Branco Duarte, pela presença e pelo auxílio e companhia durante os experimentos práticos.

E a todos os professores, técnicos e alunos do Laboratório de Tecnologia de Medicamentos, Alimentos e Cosméticos (LTMAC) que promoveram um ambiente favorável ao aprendizado acadêmico e amadurecimento pessoal.

*“Hucusque auxiliatus est nobis Dominus”*

(I Samuelis 7, 12)

## SIGLAS

<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>BGT</b>	Bergapteno
<b>CAS</b>	<i>Chemical American Society</i>
<b>CLAE</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b>ER<math>\alpha</math></b>	Receptor de estrógeno subtipo alfa
<b>EtOH</b>	Extrato obtido através de solução de álcool etílico P.A.
<b>EtOH+HCl</b>	Extrato obtido através de solução de álcool etílico P.A. acrescido de ácido clorídrico a 0,01% (v/v)
<b>g</b>	Gramas
<b>HCl</b>	Ácido Clorídrico
<b>ICH</b>	<i>International Conference on Harmonisation</i>
<b>MCF-7</b>	Linhagem celular de adenocarcinoma mamário humano
<b>mg</b>	Miligramas
<b>mL</b>	Mililitro
<b><math>\mu</math>g</b>	Microgramas
<b>P.A.</b>	Grau absoluto
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>PSR</b>	Psoraleno
<b>PTFE</b>	Politetrafluoretileno
<b>PUVA</b>	Psoralenos associado a exposição com radiação ultravioleta tipo A
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>UVA</b>	Radiação ultravioleta tipo A



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Paciente do sexo feminino com vitiligo na região da face .....	16
<b>Figura 2.</b> Estrutura química dos compostos (A) Furano, (B) Cumarina, (C) Psoraleno e (D) Bergapteno.....	18
<b>Figura 3.</b> Biossíntese das substâncias psoraleno (A) e bergapteno (B) .....	19
<b>Figura 4.</b> Interação crosslinking psoraleno-DNA. ....	20
<b>Figura 5.</b> Fotografias ilustrativas de <i>Brosimum gaudichaudii</i> Trécul.....	21
<b>Figura 6.</b> Distribuição de tamanho de partícula do fármaco betalapachona ( $\beta$ LAP) e sistemas precipitados com celulose microcristalina PH101, 1:4 e 1:2 fármaco:polímero (PHS 1 e PHS2, respectivamente) avaliados por microscopia óptica .....	23
<b>Figura 7.</b> Esquematização da técnica de precipitação espontânea.....	24
<b>Figura 8.</b> Sistema de filtração a vácuo composto por bomba de vácuo MaxPump 200w e conjunto de vidrarias Phox. Membrana de nylon Unifil 47mm de diâmetro e poros de 0,45 $\mu$ m .....	27
<b>Figura 9.</b> Proteção dos precipitados contra a luz.....	27
<b>Figura 10.</b> Sequência de imagens demonstrando precipitação espontânea do extrato EtOH com água ultrapura (1:4) .....	28
<b>Figura 11.</b> Sequência de imagens demonstrando precipitação espontânea do extrato EtOH+HCl com água ultrapura (1:4) .....	28
<b>Figura 12.</b> Membranas de filtração resistente ao solvente após filtração da solução precipitada 1:4 de EtOH (A) e EtOH+HCl (B).....	30

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Rendimento teórico massa/volume das soluções e massa/massa dos precipitados obtidos .....	31
<b>Tabela 2.</b> Concentração estimada de furanocumarinas obtidas nos precipitados de EtOH e EtOH+HCl com base na área do pico apresentadas por média e desvio padrão (DP) de triplicatas analisadas em CLAE .....	32

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1.</b> Características físico-químicas das furanocumarinas psoraleno e bergapteno. ....	18
<b>Quadro 2.</b> Estudos que comprovam eficácia da repigmentação após tratamento com PUVA .....	22
<b>Quadro 3.</b> Características organolépticas dos extratos obtidos.....	30

## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfico 1.** Curva analítica obtida para o bergapteno (a) e psoraleno (b) por CLAE. Padrões analíticos diluídos em álcool etílico P.A. Equações de reta: (a)  $y = 31516x - 3008,2$  com coeficiente de correlação linear:  $r = 0,9998$  e (b)  $y = 29312x - 2735,8$  com coeficiente de correlação linear:  $r = 0,9999$ .....31

## RESUMO

O vitiligo é uma doença crônica de causa desconhecida e multifatorial, que se manifesta por manchas acrômicas (desprovidas de melanina) e bem delimitadas. O tratamento com psoraleno associado à radiação UV (PUVA) teve sua eficácia comprovada, o que favorece o interesse da pesquisa envolvendo a raiz de mamacadela (*Brosimum gaudichaudii* Trécul), que contém furanocumarinas usadas no PUVA. O objetivo deste trabalho é propor uma metodologia nova para extração de furanocumarinas presentes nesta espécie, bem como avaliar a precipitação espontânea destas substâncias. Foi realizada extração por maceração das cascas da raiz com duas soluções extratoras a fim de compará-las, sendo a primeira de álcool etílico P.A. (EtOH) e a segunda de álcool etílico P.A. acidificado por ácido clorídrico a 0,01% (EtOH+HCl), após período de 21 dias com troca de solvente a cada 7 dias, as soluções extratoras foram submetidas à precipitação espontânea a fim de obter as furanocumarinas de interesse. Comparada com a extração etanólica padronizada pela literatura, a nova metodologia de extração com solução acidificada proporcionou maior concentração de furanocumarinas e maior rendimento em massa após desenvolvimento da técnica de precipitação espontânea. Sendo assim, a nova metodologia de extração proposta apresenta resultados satisfatórios quanto ao seu objetivo esperado e a técnica de precipitação espontânea mostrou-se útil para obtenção das substâncias de interesse e permitir novas pesquisas de tecnologias farmacêuticas a fim de proporcionar novas alternativas de tratamento àqueles acometidos pelo vitiligo.

**Palavras-chave:** vitiligo, psoraleno, bergapteno, *Brosimum gaudichaudii*, precipitação espontânea

## ABSTRACT

Vitiligo is a chronic disease with unknown and multifactorial causes, which manifested by acromic (devoid of melanin) and well delimited spots. The treatment with psoralen associated to UV radiation (PUVA) had its proven your efficacy, which increase the interest of the research involving the “mama-cadela” (*Brosimum gaudichaudii* Trécul), that had the furanocoumarins used in PUVA. The objective of this work is to propose a new methodology for extraction of furanocoumarins presents in this species, as well as to evaluate the spontaneous precipitation of these substances. The extracts obtained by maceration of the root barks with two extractive solutions have been compared. The first one of absolute ethyl alcohol (EtOH) and the second one of absolute ethyl alcohol acidified with 0.01% hydrochloric acid (EtOH + HCl), after a period of 21 days with solvent exchange each 7 days, the extractive solutions were submitted to spontaneous precipitation in order to obtain the furanocoumarins of interest. Compared with standardized ethanol extraction, the new extraction methodology with acidified solution provided a higher concentration of furanocoumarins and higher mass yield after the development of the spontaneous precipitation technique. Thus, the proposed new extraction methodology presents satisfactory results regarding its expected objective and the spontaneous precipitation technique has proved useful for obtaining the substances of interest, a loud for research of pharmaceutical technologies in order to provide new alternatives of treatment to those affected by vitiligo.

**Key words:** vitiligo, psoralen, bergapten, *Brosimum gaudichaudii*, spontaneous precipitation

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	15
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	15
2.1 Vitiligo .....	15
2.2 Furanocumarinas: psoraleno e bergapteno .....	18
2.3 <i>Brosimum gaudichaudii</i> Trécul. ....	21
2.4 Precipitação espontânea em meio hidrofílico .....	22
3. JUSTIFICATIVA .....	24
4. OBJETIVOS .....	24
4.1 Objetivos gerais .....	24
4.2 Objetivos específicos .....	24
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
5.1. Materiais .....	25
5.1.1. Reagentes e padrões analíticos.....	25
5.1.2. Equipamentos .....	25
5.2. Metodologia.....	25
5.2.1 Coleta do material vegetal .....	25
5.2.2. Obtenção de sistemas precipitados .....	26
5.2.3. Análise dos precipitados .....	27
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
7. CONCLUSÃO.....	33
8. REFERÊNCIAS.....	33

## 1. INTRODUÇÃO

O vitiligo é uma doença crônica de causa desconhecida, que se manifesta por manchas acromicas (desprovidas de melanina) e bem delimitadas (Miranda, 2014). Até o momento não existe tratamento completamente eficaz para a doença, mas observa-se bons prospectos com a associação de compostos furanocumarínicos, como o psoraleno e o bergapteno, e radiação ultravioleta para vitiligo generalizado (Steiner et al, 2004).

As furanocumarinas possuem a característica de serem substâncias hidrofóbicas, ou seja, não são solubilizadas em água. Esses compostos são encontrados na espécie nativa do cerrado popularmente chamada de mama-cadela (*Brosimum gaudichaudii* Trécul) e a sua presença desperta interesse em pesquisas com o objetivo de provocar a hiperpigmentação da pele através da migração de novos melanócitos para o local onde ocorreu excitação com luz UV (Pozetti, 2005; Faria et al, 2015).

Tendo em vista as inúmeras dificuldades de padronização de dose de extratos vegetais para fins terapêuticos, uma vez que tais extratos possuem substâncias fora do interesse de extração e ainda desconhecidas e variáveis concentrações de cada princípio ativo presente (Netto et al, 2006), este trabalho tem como proposta extrair os compostos bergapteno e psoraleno de extratos vegetais das cascas da raiz de *Brosimum gaudichaudii* por meio da técnica de extração por maceração com solução etanólica acidificada por HCl e finalizada com precipitação espontânea. Assim, espera-se que o precipitado obtido auxilie no desenvolvimento de inovação tecnológica para contribuir no tratamento de doenças despigmentantes da pele, como vitiligo.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Vitiligo

O vitiligo é uma doença sistêmica e crônica caracterizada pela presença de manchas polimórficas e acromicas atribuídas à ausência ou disfunção dos melanócitos na área afetada. A desordem manifesta-se pela despigmentação na pele



e membranas mucosas (Tarlé et al, 2015) (cf. Figura 1).

Tarlé et al. (2015) concluem que não existem dados epidemiológicos atualizados sobre a incidência e prevalência do vitiligo para a população brasileira, mas é sabido que cerca de 2% da população mundial é portadora dessa doença (Krüger e Schallreuter, 2012). Dessa forma, não existe consenso acerca de sua prevalência na população brasileira em geral.

Mohammed et al. (2015), enaltecem o vitiligo como uma doença de causa indefinida e multifatorial, envolvendo influência de fatores neurais, autoimunes, autotóxicos e/ou genéticos.



**Figura 1.** Paciente do sexo feminino com vitiligo na região da face. Fonte: Falabella et al, 2009.

Assim, como não há uma causa definida para a doença, também não existe um tratamento específico, sendo comumente realizadas intervenções tópicas, associadas

ou não a fototerapia (Mohammed et al, 2015). Corticosteroides por via oral também podem ser empregados na terapia do vitiligo, mas que podem resultar em efeitos colaterais não desejados, como acne, hipertricose (aumento da pilosidade), entre outros (Rodrigues et al, 2017).

Em casos de pacientes que apresentam ineficácia no tratamento com terapia oral com corticosteroides, como prednisolona, betametasona ou dexamentasona (Steiner et al, 2004) ou fototerapia, pode ser indicada intervenção cirúrgica, com o implante de enxertos de pele (Dellatorre e Cafrune, 2016).

Como alternativa bem aceita no tratamento do vitiligo, tem-se as furanocumarinas associadas a radiação ultravioleta (PUVA), de modo especial o psoraleno e o bergapteno, substâncias que, quando excitadas por radiação UV, ligam-se ao DNA, mais especificamente às bases timina, e estimulam a produção de melanina (melanogênese) (Bansal, Sahoo e Garg, 2013; Duarte, Bedrikow e Kobata, 2009; Steiner et al, 2004).

A PUVA pode ser realizada através do psoraleno por via oral, tópica ou uma associação das duas formas e, ainda, uma associação da PUVA tópica com enxertos ou ainda corticoesteróides tópicos (Steiner et al, 2004).

Por via oral, indicada para vitiligo generalizado, o tratamento tem estabelecida uma recomendação de ingestão de comprimidos ou xaropes contendo as furanocumarinas cerca de 2h antes do início da exposição à radiação e, assim que ingeridos os princípios ativos, proteger os olhos para evitar fototoxicidade. Como efeitos adversos comuns descritos na literatura, tem-se eritema, prurido, náuseas e vômitos. Esse tratamento via oral é contraindicado para pacientes que apresentam doenças hepáticas e renais, catarata, glaucoma e câncer de pele (Duarte, Bedrikow e Kobata, 2009; Steiner et al, 2004).

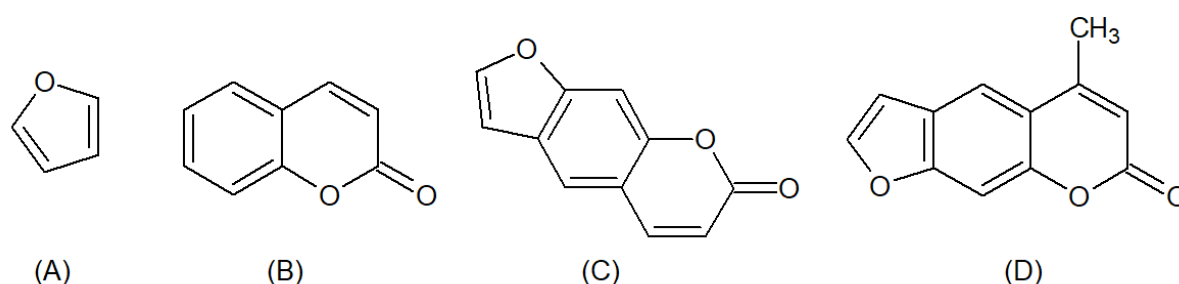
O tratamento PUVA por via tópica é indicado para tratamento de vitiligo localizado, especialmente nas regiões palmoplantar e do couro cabeludo. Para tal, é recomendado a aplicação de uma loção cremosa contendo as substâncias furanocumarínicas cerca de 30min antes da exposição a UVA. Seu principal efeito adverso é o desenvolvimento de reação bolhosa fototóxica, que pode ser amenizada com o uso de fotoprotetores de amplo espectro (Duarte, Bedrikow e Kobata, 2009; Steiner et al, 2004).

Na associação da PUVA com enxertos, estimula-se a formação de bolhas no local acometido e, posteriormente, aplica-se o enxerto e a terapia PUVA. Já na

associação com corticoesteróides tópicos, ocorre a aplicação simultânea das duas terapias (Steiner et al, 2004).

## 2.2 Furanocumarinas: psoraleno e bergapteno

As furanocumarinas são metabólitos secundários oriundas da ligação entre a cumarina (lactona do ácido cinâmico) e o furano, e podem ser encontradas em fungos, bactérias e diversos vegetais, como por exemplo na espécie *Brosimum gaudichaudii* Trécul. Entre as furanocumarinas encontradas nesse vegetal, encontram-se o psoraleno e o bergapteno (cf. Figura 2), cujas características físico-químicas estão demonstradas no quadro 1 e a sua biossíntese na figura 3.



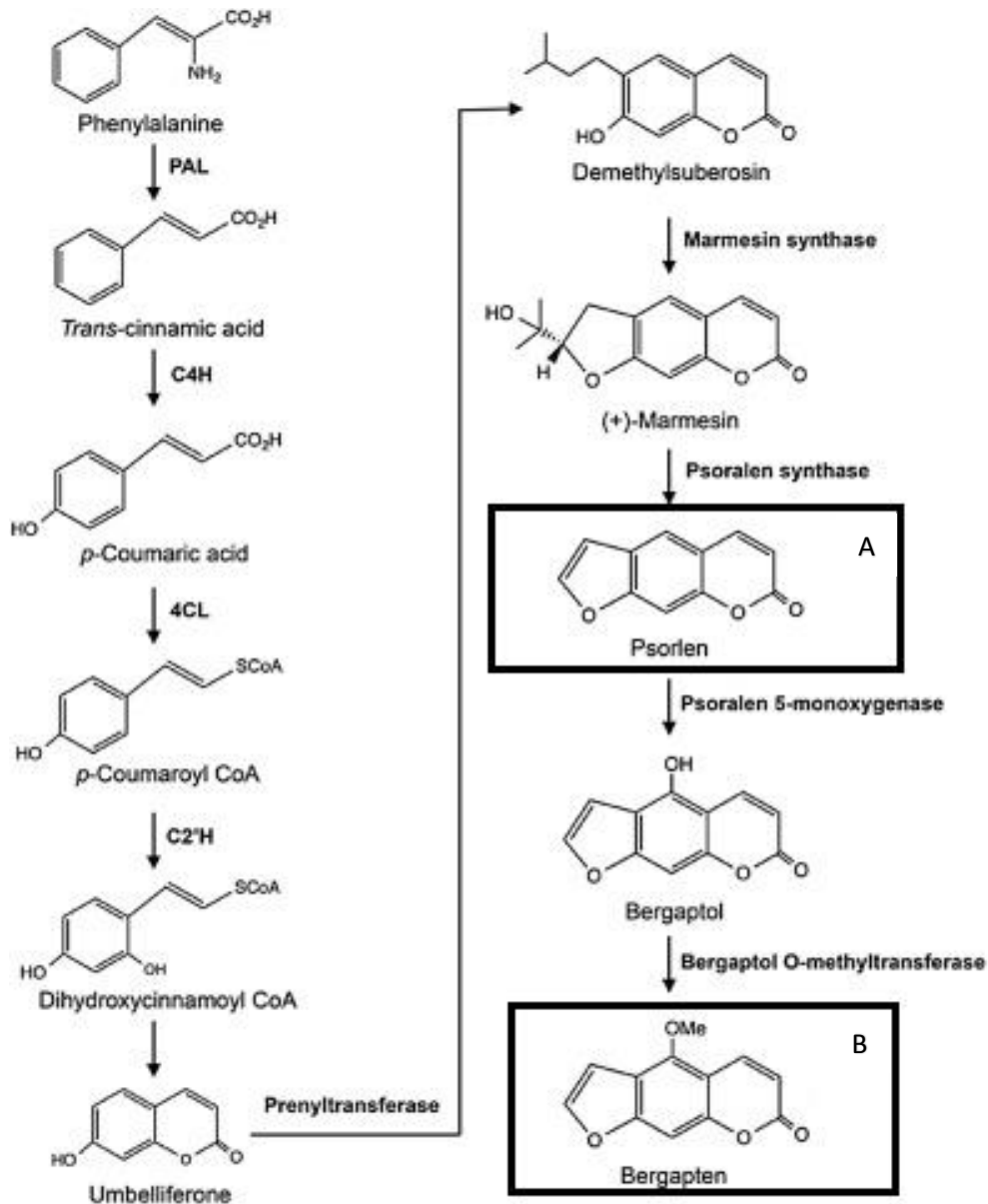
**Figura 2.** Estrutura química dos compostos (A) Furano, (B) Cumarina, (C) Psoraleno e (D) Bergapteno. Fonte: PubChem (2018c; 2018b; 2018d; 2018a)

**Quadro 1.** Características físico-químicas das furanocumarinas psoraleno e bergapteno.

Característica	Psoraleno	Bergapteno
Número CAS	66-97-7	484-20-8
Fórmula química	C <sub>11</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>
Peso molecular (g/mol)	186,166	216,192
Ponto de fusão (°C)	171	188
Coefficiente de partição (LogP)	1,94	1,78
pKA	-2,90	-2,80
Solubilidade	Solúvel em etanol, metanol, acetato de etila, acetona	Solúvel em etanol, metanol, ácido acético glacial, clorofórmio
Biodisponibilidade máxima	1-3h	

<b>Metabolização</b>	CYP450 2A6
<b>Conjugação</b>	Glicuronidação e Sulfatação
<b>Tempo de meia-vida</b>	12-24h
<b>Excreção</b>	Urinária

Fonte: Adaptado de SILVA-FILHO, 2014; PubChem COMPOUND DATABASE (2018a), (2018d); Silva et al, 2009; Duarte, Bedrikow e Kobata, 2009.



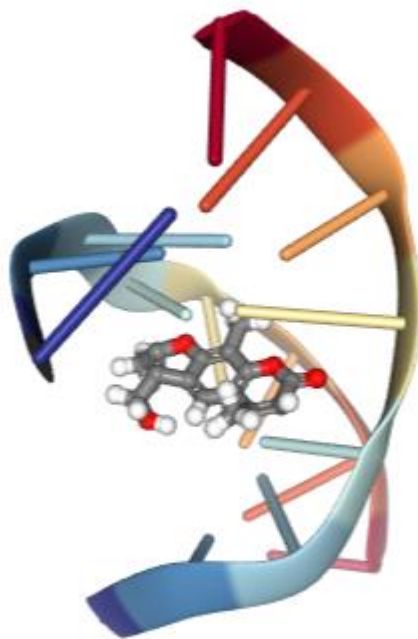
**Figura 3.** Biossíntese das substâncias psoraleno (A) e bergapteno (B). Fonte: Adaptado de Hung, Suh e Wang, 2017

O psoraleno e o bergapteno são os principais compostos furanocumarínicos utilizados para o tratamento de doenças despigmentantes da pele. Podem ser obtidos através de extrações naturais ou sintetizados quimicamente através da condensação

de um núcleo cumarínico com um anel furano e demais cadeias laterais (Zhou et al., 2014; Cestari, Pessato e Correa, 2007; Scott, 1976).

Possuem mecanismos de ação similares, como: agonista de receptor ER $\alpha$  levando a proliferação de células MCF-7 (Xin et al, 2010), adjuvante contra leucemia multirresistente (Wang et al, 2001), estimular diferenciação de osteoblastos através de sinalização da proteína morfogênica óssea (Tang et al, 2011).

Também é descrito que o psoraleno é capaz de interagir com o DNA bloqueando a interação do material genético com transcriptases e polimerases diminuindo a replicação celular em 3 etapas: a) intercalação com nucleotídeos do DNA; b) absorção de um fóton UVA e ligação covalente entre a ligação pi do anel furano e uma base timina do DNA; e c) absorção de outro fóton UVA e formação de outra ligação covalente entre o anel lactona e outra base timina do DNA (Silva et al, 2009; Rocha, Viana e Mesquita, 2004), o que gera um fenômeno chamado *crosslinking* (ligação cruzada) entre cadeias opostas, como mostra a figura 4.



**Figura 4.** Interação crosslinking psoraleno-DNA. Fonte: Protein Data Bank (PDB) <<https://www.rcsb.org/3d-view/204D>>. Acesso em: 25 out 2018.

Um estudo de metanálise recente demonstrou que o tratamento com PUVA deve ser indicado por no mínimo seis meses para aumentar a resposta ao tratamento,

mas é necessário que recorrentes avaliações sejam feitas para observar diferentes limitações como, por exemplo, dor, fototoxicidade, náusea ou eritema. O tratamento com PUVA mostra-se eficaz em casos de vitiligo generalizado ou universal e também tem se mostrado promissor em pacientes com outras patologias, como a psoríase (Doppalapudi et al, 2017).

### 2.3 *Brosimum gaudichaudii* Trécul.

A *Brosimum gaudichaudii* Trécul. é uma planta nativa brasileira em maior abundância no cerrado, mas pode ser encontrada em todas as 5 regiões do Brasil: Norte (Amazonas e Rondônia), Nordeste (Maranhão, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Bahia e Alagoas), Centro-Oeste (Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Distrito Federal), Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Rio de Janeiro) e no Sul (Paraná). Pertence ao grupo das angiospermas e à família *Moraceæ*. Também conhecida como mama-cadela ou mamica-de-cadela, devido à forma como os frutos são dispostos nos ramos e lembram a mama de uma fêmea canina (*cf.* Figura 5) (Romaniuc-Neto et al, 2015).



**Figura 5.** Fotografias ilustrativas de *Brosimum gaudichaudii* Trécul. Legenda: *Brosimum gaudichaudii* Trécul. em seu habitat natural (região de cerrado) - 1; comprimento da raiz principal (raiz pivotante) - 2; destaque da parte aérea e frutos - 3 e semente do fruto maduro - 4. Fonte: Quintão, 2018.

O uso popular da planta é descrito como uma decocção das cascas do caule e raízes, infusão das folhas ou até extrato alcóolico das mesmas, tanto para vitiligo

quanto para psoríase (Agra et al, 2008; Rodrigues, 2001; Pereira, Pereira e Silva, 2006).

O interesse nas pesquisas envolvendo a mama-cadela se dá pela presença das furanocumarinas psoraleno e bergapteno, ambas encontradas predominantemente nas cascas da raiz e cascas do caule da planta e também no fruto maduro (Faria et al, 2015). O psoraleno é utilizado associado a radiação ultravioleta com a finalidade de provocar a hiperpigmentação da pele em pacientes diagnosticados com vitiligo e psoríase (Pozetti, 2005), tratamento que teve sua eficácia estudada e comprovada em humanos como demonstrado por estudos dispostos no quadro 2.

**Quadro 2.** Estudos que comprovam eficácia da repigmentação após tratamento com PUVA

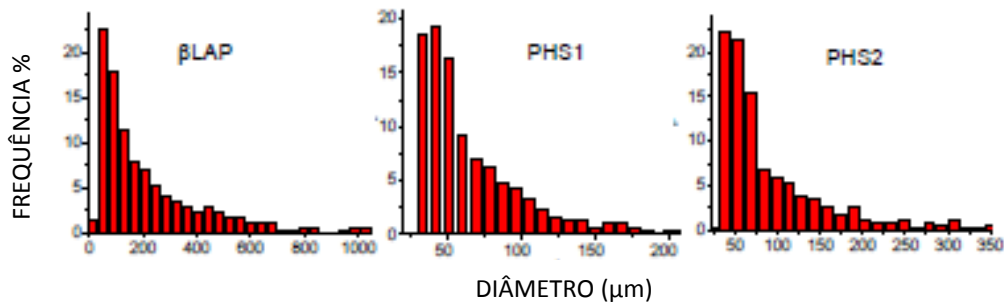
<b>Estudo</b>	<b>Tipo de estudo</b>	<b>Nº de pacientes</b>	<b>Resultados</b>
<b>Lerner, Denton e Fitzpatrick, 1953</b>	Estudo de casos	9	55% melhora no quadro de vitiligo.
<b>Pathak et al, 1984</b>	Ensaio clínico randomizado	366	45% eficácia na repigmentação da face e 67% de eficácia na repigmentação da face e pescoço.
<b>Kwok, Anstey e Hawk , 2002</b>	Metanálise	97	8% repigmentação completa, 60% moderada e 30% mínima
<b>Vussuki et al, 2006</b>	Estudo de casos	28	60% dos pacientes com repigmentação parcial

Fonte: Elaborado pelo autor.

#### **2.4 Precipitação espontânea em meio hidrofílico**

A técnica de precipitação espontânea é relatada por muitos autores como metodologia tecnológica para melhorar a dissolução de fármacos pouco solúveis em água, pois reduz seu tamanho de partícula e aumenta sua área superficial (Maximiano et al, 2011; Cunha-Filho, 2007; Rasenack e Muller, 2002; Steckel et. al., 2003). Essa técnica proporciona a interação intrínseca entre polímeros hidrofílicos e a superfície de substâncias insolúveis ou pouco solúveis em água (*cf.* Figura 6), proporcionando redução do seu ângulo de contato e assim, produzindo melhoras na sua molhabilidade (Cunha-Filho, 2007).

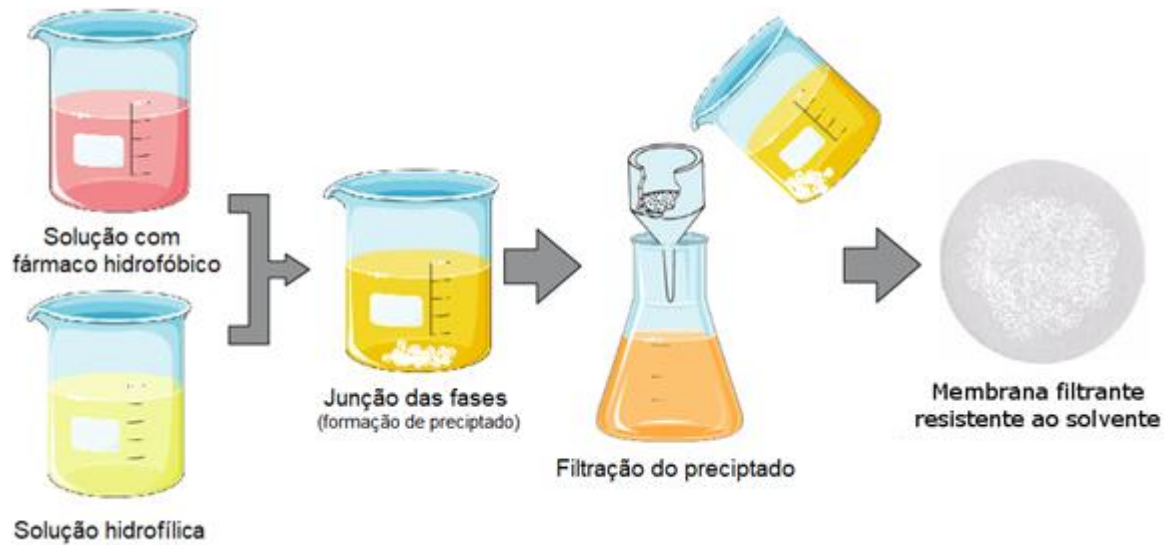
No estudo de Cunha-Filho (2007), a técnica de precipitação espontânea possibilitou a redução do tamanho de partícula do fármaco betalapachona (diâmetro de Feret médio =  $106,8 \mu\text{m} \pm 2,32$ ) com a obtenção de micropartículas poliméricas com diâmetro médio de Feret de  $56,3 \mu\text{m} \pm 1,6$  e  $63,6 \mu\text{m} \pm 1,87$ , utilizando celulose microcristalina PH101 (MCC) nas proporções 1:4 e 1:2 (fármaco:polímero p/p), respectivamente (*cf.* Figura 7).



**Figura 6.** Distribuição de tamanho de partícula do fármaco betalapachona (βLAP) e sistemas precipitados com celulose microcristalina PH101, 1:4 e 1:2 fármaco:polímero (PHS 1 e PHS2, respectivamente) avaliados por microscopia óptica. Fonte: Adaptado de Cunha-Filho, 2007.

A metodologia de precipitação espontânea (*cf.* Figura 7) consiste em misturar uma solução orgânica do fármaco hidrofóbico com uma solução aquosa hidrofílica, seguida de filtração e secagem, respectivamente, para separação e obtenção do precipitado sólido (Rasenack e Mueller, 2004). O procedimento de secagem também pode conferir modulações de solubilidade do sistema precipitado obtido, uma vez que depende de características físico-químicas das substâncias para não promover degradação das mesmas (Rasenack e Mueller, 2004).





**Figura 7.** Esquemática da técnica de precipitação espontânea. Fonte: elaborado pelo autor.

### 3. JUSTIFICATIVA

O trabalho desenvolvido permitirá maior conhecimento acerca da metodologia de extração dos metabólitos furanocumarínicos presentes em *Brosimum gaudichaudii* Trécul. e a viabilidade da técnica de precipitação espontânea para se obter o psoraleno e o bergapteno a fim de proporcionar matéria-prima para promover melhor qualidade no tratamento de doenças despigmentantes da pele, como o vitiligo, através de PUVA.

### 4. OBJETIVOS

#### 4.1 Objetivos gerais

Desenvolver nova metodologia de extração de furanocumarinas presentes em *Brosimum gaudichaudii* e sua apresentação após precipitação espontânea para possível inserção em sistema sólido de liberação e aplicação tópica no tratamento do vitiligo através de uma emulsão.

#### 4.2 Objetivos específicos

- Comparar métodos de extração por maceração;
- Avaliar as propriedades organolépticas dos extratos e precipitados obtidos;

- Confirmar a presença de furanocumarinas nos extratos após técnica de precipitação espontânea.

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1. Materiais

#### 5.1.1. Reagentes e padrões analíticos

Padrões analíticos de psoraleno (lote 047M4060V) e bergapteno (lote BCBV2068) obtidos da Sigma-Aldrich; Álcool etílico (EtOH) P.A. (lote 94592) e ácido clorídrico (HCl) (lote 78855) foram obtidos de Dinâmica Química Contemporânea Ltda (São Paulo, Brasil). Fase móvel para cromatografia composta por Água ultrapura:Acetonitrila:Metanol (50:25:25) (v/v/v) distribuída em diferentes frascos.

#### 5.1.2. Equipamentos

Cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), modelo Shimadzu LC 20-AD, composto por duas bombas (modelo LC 20-AT), injetor automático (modelo 9SIL-20AD) e forno (modelo CTO-20AS) e acoplados a um detector espectrofotométrico (modelo SPD-M20A). Foi utilizado uma coluna de fase reversa C<sub>18</sub>, modelo Shimadzu Shim-pack VP-ODS 150 mm x 4,6 mm. Balança analítica, modelo SHIMADZU AUW220D. Sistema de filtração a vácuo composto por vidrarias PHOX com junta 1000 mL e bomba de vácuo, modelo New Pump 200w. Micropipetas automáticas, modelo Gilson Pipetman Classic, volumes 1-10 µL, 10-100 µL e 100-1000 µL. Membranas lisas de *nylon*, de diâmetro 47 mm e poro 0,45 µm hidrofóbicos foram comprados de Unifil (Brasil). Filtro de seringa, pré-limpo, membrana de PTFE Hidrofóbico, diâmetro do filtro 13 mm, diâmetro do poro 0,45 µm da marca Analítica (Brasil). Materiais utilizados no Laboratório de Tecnologia de Medicamentos, Alimentos e Cosméticos (LTMAC): balões volumétricos, béqueres, provetas, placas de Petri, funil de vidro, espátulas, papel alumínio, Parafilm®.

### 5.2. Metodologia

#### 5.2.1 Coleta do material vegetal

A droga vegetal da casca da raiz de *Brosimum gaudichaudii* foi coletada em uma propriedade localizada na Rodovia DF 330, Quinhão 8, área Fazenda Velha,

Sobradinho, Brasília-DF. A área pertence ao bioma Cerrado e tem a seguinte localização: 15° 43' 47.1'' S, 47° 42' 14.4'' O. A coleta foi realizada no dia 30 de abril de 2017 às 10 horas da manhã (QUINTÃO, 2018) e cedida pela Dra. Livia C. L. de Sá Barreto.

### 5.2.2 Obtenção dos extratos

Os extratos foram preparados com duas soluções diferentes a fim de compará-las, a primeira composta por Álcool Etílico P.A. (EtOH) e a segunda composta por Álcool Etílico P.A. e Ácido Clorídrico 0,01% (v/v) (EtOH+HCl), na proporção de 1:3 (p/v).

O macerado foi obtido das cascas de raiz de *Brosimum gaudichaudii*. A extração teve duração estabelecida de 21 dias, em repouso e ao abrigo de luz. Nos dias 7 e 14 os extratos foram filtrados e foi adicionada igual quantidade inicial de solvente ao macerado, a fim de extrair a máxima quantidade de substâncias no prazo estabelecido.

Durante o processo extrativo os recipientes foram acondicionados na bancada do Laboratório de Tecnologia de Medicamentos, Alimentos e Cosméticos (LTMAC), Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, à temperatura ambiente entre 23°C e 26°C, vedados com Parafilm® e protegidos da luz solar com papel alumínio e após o período de extração, os extratos foram acondicionados em frascos âmbar e reservados na geladeira, a fim de preservar suas propriedades e minimizar possíveis perdas de suas características.

### 5.2.2. Obtenção dos precipitados

A precipitação espontânea consiste em misturar uma solução orgânica com uma solução hidrofílica, seguida de filtração e secagem, respectivamente, para separação e obtenção dos precipitados (Rasenack e Mueller, 2004). Foi realizada precipitação nos dois extratos usando água ultrapura na proporção de 1:4 (v/v).

Montado o sistema (cf. figuras 9 e 10) e realizada a precipitação espontânea (cf. figuras 11 e 12), iniciou-se a filtração protegendo os extratos da luz para manter as propriedades e os princípios ativos de interesse. Tendo finalizadas as filtrações, foram obtidos precipitados nas membranas resistentes ao solvente.

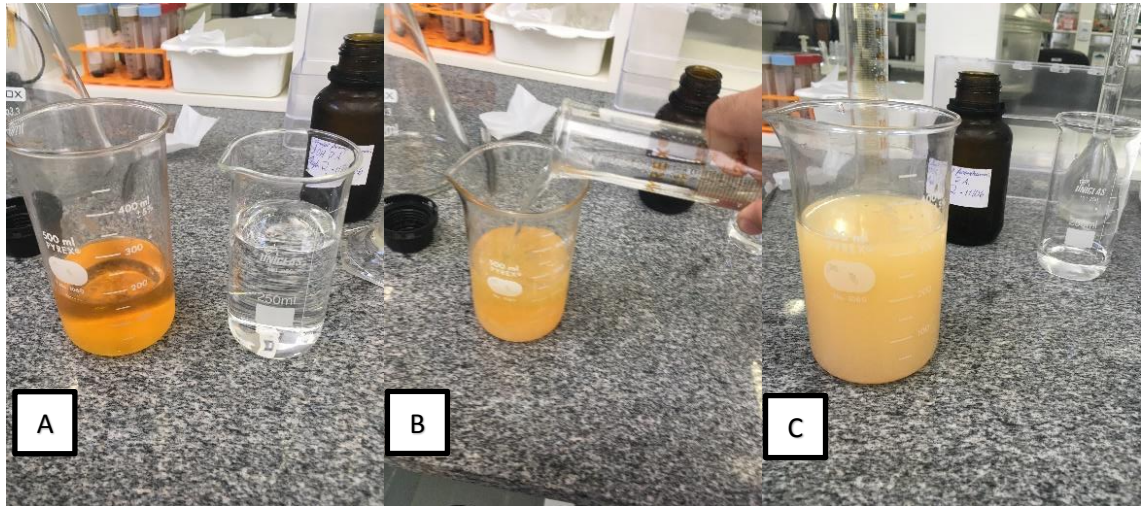


**Figura 8.** Sistema de filtração a vácuo composto por bomba de vácuo MaxPump 200w e conjunto de vidrarias Phox. Membrana de nylon Unifil 47mm de diâmetro e poros de 0,45 $\mu$ m. Fonte: elaborado pelo autor.

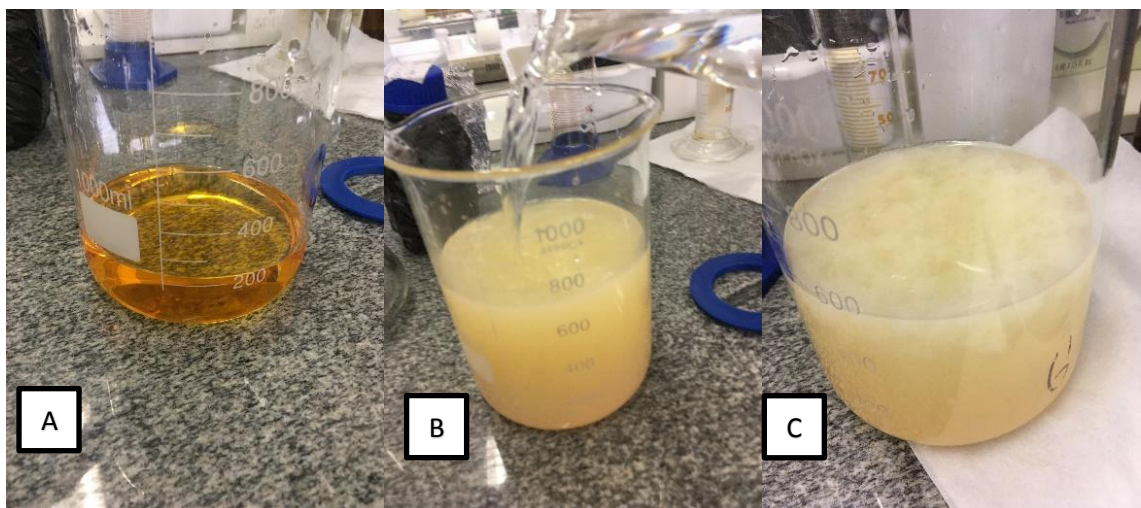


**Figura 9.** Proteção dos precipitados contra a luz. Fonte: elaborado pelo autor.

Como mostrado nas figuras 11 e 12, foi realizada a precipitação espontânea e as características organolépticas de cor, aspecto e odor foram observadas e descritas no quadro 3, sendo evidente a formação de precipitado nos dois recipientes:



**Figura 10.** Sequência de imagens demonstrando precipitação espontânea do extrato EtOH com água ultrapura (1:4). A) presença da solução hidrofóbica; B) adição de solução hidrofílica; C) solução final com apresentação de precipitados. Fonte: elaborado pelo autor.



**Figura 11.** Sequência de imagens demonstrando precipitação espontânea do extrato EtOH+HCl com água ultrapura (1:4). A) presença da solução hidrofóbica; B) adição de solução hidrofílica; C) solução final com apresentação de precipitados. Fonte: elaborado pelo autor.

### 5.2.3. Análise dos precipitados

As membranas filtrantes com precipitado foram protegidas da luz cobertas com papel alumínio e secas a temperatura ambiente. Após secagem, foram colocadas em uma placa de Petri, onde foi adicionado 100 mL de álcool etílico P.A. a fim de dissolver o precipitado obtido para análise em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As condições cromatográficas para análise dos compostos consistiram em fase móvel composta por Água Ultrapura:Acetonitrila:Metanol (50:25:25) (v/v/v), vazão de 0,6

mL/min, o volume de injeção das amostras de 10 µL e forno a 35°C, com leitura a 340 nm, como validado por Quintão (2018).

O tempo de duração da corrida foi de 20 minutos por amostra e o tempo de retenção para os picos característicos foi de 9 minutos para o psoraleno e 13 minutos para o bergapteno (QUINTÃO, 2018). O método utilizado foi padronizado e validado utilizando em conformidade com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e com o *International Conference on Harmonisation* (ICH).

Para mensuração da linearidade foi utilizada uma solução padrão de psoraleno na concentração de 100 µg/mL e outra de bergapteno na concentração de 250 µg/mL e, a partir desta, preparou-se diluições e obtendo as concentrações finais de 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10 µg/mL. A curva foi disposta em forma de gráfico cruzando os dados de área do pico obtida como resultado da análise do padrão. Utilizou-se ainda o processo de regressão linear a fim de se obter uma reta  $y = ax + b$ , sendo “a” o coeficiente angular e “b” o coeficiente linear, e determinar a linearidade com o valor do coeficiente de correção linear (r), devendo ser  $r > 0,99$  como preconiza a ANVISA (2003).

Uma vez descrita e realizada a metodologia para se alcançar os objetivos propostos, os resultados obtidos foram analisados e discutidos no seguinte capítulo.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento deste trabalho, junto com pesquisa bibliográfica referente ao tema, demonstrou ser de grande importância para o desenvolvimento de novos projetos e pesquisas envolvendo extração de princípios ativos naturais em plantas dispostas na fauna brasileira para comprovar, ou não, o uso popular dessas plantas.

Foram obtidos extratos por método de maceração, que consiste em extrair um princípio ativo de interesse de uma droga vegetal através de um solvente por um período não estabelecido na literatura (Rodrigues et al, 2016).

Não foram encontradas evidências de uso da solução acidificada na literatura para extração de cumarinas, mas para outros compostos orgânicos, como as antocianinas (Meregalli, 2017; Ferreira, 2014; Constant, 2003). O estudo de Neves et al (2002) comparou três solventes para extração que determinou o EtOH como o mais eficiente na extração das furanocumarinas da mama-cadela e ainda que as cascas

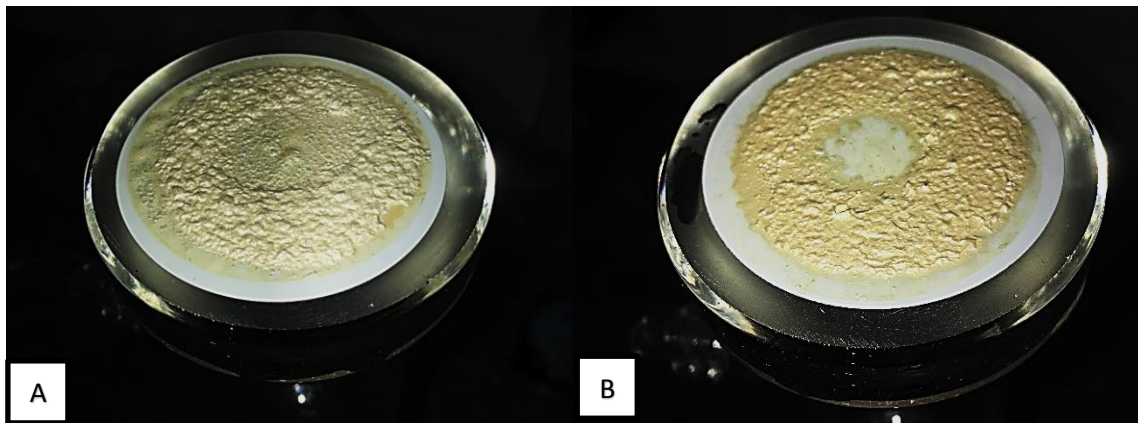
das raízes tiveram melhor resultado que as cascas do caule. As características organolépticas dos extratos obtidos estão descritas no quadro 3.

**Quadro 3.** Características organolépticas dos extratos obtidos

	<b>Cor</b>	<b>Aspecto</b>	<b>Odor</b>
<b>EtOH</b>	Dourado/Acobreado	Límpido em temperatura ambiente e refrigerado	Característico, similar ao odor de óleo de coco, que pode causar náusea após exposição prolongada
<b>EtOH+HCl</b>		Límpido em temperatura ambiente, turvo quando refrigerado	

Fonte: elaborado pelo autor.

Os precipitados obtidos como resultado das filtrações em membrana resistente ao solvente estão apresentados na Figura 13, demonstrando respectivamente os precipitados na proporção da solução 1:4 de EtOH e de EtOH+HCl.



**Figura 12.** Membranas de filtração resistente ao solvente após filtração da solução precipitada 1:4 de EtOH (A) e EtOH+HCl (B). Fonte: elaborado pelo autor.

As extrações em EtOH e EtOH+HCl foram realizadas com igual quantidade inicial de solvente extrator, porém apresentaram volume final de extrato diferentes, e a fim de comparar as duas soluções no que tange ao rendimento de cada extração após obtenção das furanocumarinas por microprecipitação, foi obtida a seguinte tabela:

**Tabela 1.** Rendimento teórico massa/volume das soluções e massa/massa dos precipitados obtidos

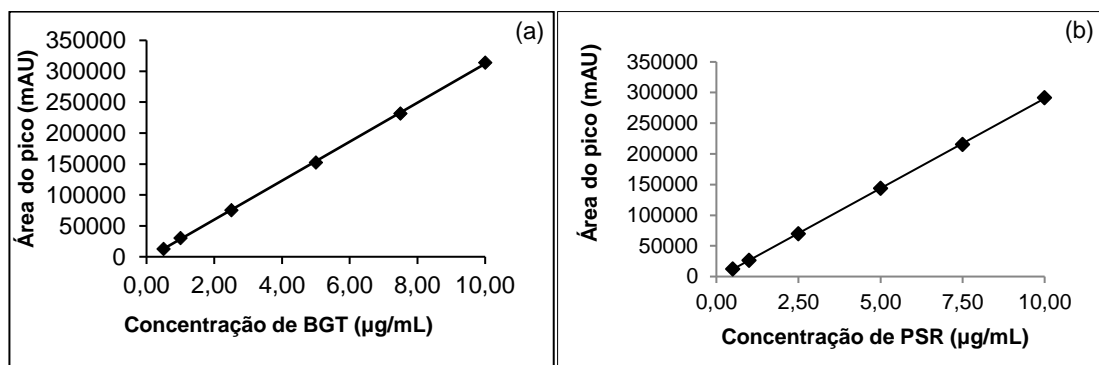
Amostra	Massa da droga vegetal (g)	Volume final do extrato antes da precipitação (mL)	Massa do precipitado (g)	Rendimento massa/volume (mg/mL)	Rendimento massa/massa (mg/g)
EtOH	30,00	164,30	0,33	3,76	11,03
EtOH+HCl	30,00	200,10	0,41	4,38	13,73

Fonte: elaborado pelo autor

Calculado o rendimento teórico, a análise de cada precipitado foi realizada após preparo de solução com ressuspensão dos precipitados retidos na membrana de filtração de *nylon* em 100mL de álcool etílico P.A. e filtragem em filtro de seringa hidrofóbico. As soluções resultantes foram submetidas à CLAE em triplicata sob as condições: vazão de 0,6 mL/min, temperatura do forno a 35 °C e  $\lambda = 340$  nm.

Analisados os cromatogramas resultantes da análise por CLAE, pôde-se identificar as substâncias de interesse: psoraleno e bergapteno, com tempo de retenção similar para os dois precipitados sendo 9 e 13 minutos, respectivamente.

Com base nos valores de regressão linear é possível afirmar que o método é linear nas concentrações de 0,5  $\mu\text{g/mL}$  a 10,0  $\mu\text{g/mL}$ , conforme padrão estabelecido pela ANVISA (2003). A partir da linearidade dos padrões analíticos das furanocumarinas (cf. gráfico 3), definiram-se as equações da reta e foi possível determinar as concentrações de cada furanocumarina com base na área do pico, como demonstrada na tabela 2.



**Gráfico 1.** Curva analítica obtida para o bergapteno (a) e psoraleno (b) por CLAE. Padrões analíticos diluídos em álcool etílico P.A. Equações de reta: (a)  $y = 31516x - 3008,2$



com coeficiente de correlação linear:  $r = 0,9998$  e (b)  $y = 29312x - 2735,8$  com coeficiente de correlação linear:  $r = 0,9999$

**Tabela 2.** Concentração estimada de furanocumarinas obtidas nos precipitados de EtOH e EtOH+HCl com base na área do pico apresentadas por média e desvio padrão (DP) de triplicatas analisadas em CLAE

Precipitado	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )	
	Bergapteno	Psoraleno
EtOH	559,40 $\pm$ 5,34	19,90 $\pm$ 0,26
EtOH+HCl	754,35 $\pm$ 8,28	32,86 $\pm$ 0,77

Fonte: elaborado pelo autor

A tabela 2 demonstra uma diferença em 34,85% na concentração média de bergapteno e de 65,12% na concentração média de psoraleno, comprovando a eficácia da rentabilidade da extração com a solução acidificada quando comparada com a extração etanólica, sugerida por Neves et al (2002) como a mais indicada para extração das furanocumarinas.

Comparando as duas metodologias de extração executadas neste trabalho, foi obtida concentração de bergapteno com aumento de 91,66% e de psoraleno com redução de concentração em 58,24% em favor da nova metodologia proposta. Tal diferença nas concentrações precisam ser melhores analisadas e descritas em estudos prósperos.

A fim de comprovar a significância e a confiabilidade estatísticas dos dados comparativos apresentados na tabela 2, tanto do psoraleno quanto do bergapteno, foi realizado o teste  $t$  de *student* para amostras não pareadas com intervalo de confiabilidade de 95%. Foi estabelecida a hipótese de que as médias são iguais, a fim de rejeitar hipótese

O teste  $t$  resultou o valor de  $p < 0,0001$  para as médias comparadas (Psoraleno: entre EtOH e EtOH+HCl; e Bergapteno: entre EtOH e EtOH+HCl) e o valor de  $t = -12,964$  demonstrando que os valores são significantes estatisticamente (onde o valor de  $p$  deve ser menor que 0,05) e estão dispostos dentro do intervalo de confiança (onde  $t$  deve estar entre -14,271 e -11,656). Sendo assim, pode-se dizer que há evidência estatística quando comparadas as concentrações obtidas no precipitado EtOH e EtOH+HCl, e que as concentrações de bergapteno e psoraleno são maiores no precipitado EtOH+HCl.

Ensaio como o de precipitação espontânea para obtenção de substâncias oriundas de matéria vegetal não foram encontrados nos bancos de dados disponíveis para pesquisa, como SciELO, Google Scholar, LILACS, MedLife, Cochrane, etc. sendo este um trabalho que abre um leque de oportunidades para aprofundamentos e iniciativas a respeito do uso de mama-cadela para obter furanocumarinas para serem aplicadas no tratamento do vitiligo, psoríase ou outras doenças despigmentantes da pele, tanto por via tópica, quanto por via oral.

## 7. CONCLUSÃO

O trabalho demonstrou resultados satisfatórios quanto ao seu objetivo proposto, uma vez que foi possível comparar as duas metodologias de extração e a partir das análises realizadas pode-se concluir que a nova metodologia de maceração se mostrou eficaz na extração das furanocumarinas e a precipitação espontânea mostrou resultados favoráveis para ofertar o extraído a futuras análises pesquisas para caracterização e detalhamento dos extratos e precipitados obtidos.

Os resultados obtidos abrem novos caminhos para inovação tecnológica a fim de inserir novos sistemas terapêuticos como opção para o tratamento do vitiligo e ainda coloca em destaque um incentivo à pesquisa envolvendo a vasta flora nacional, bem como à preservação do cerrado brasileiro.

Recomenda-se então, após finalizado este trabalho, que novas pesquisas sejam feitas e as que já estão em andamento, sejam mais aprofundadas para métodos de extração vegetal que possam resultar em matéria prima de qualidade para futuras formas farmacêuticas e ainda que doenças que atingem pequenas parcelas da população não sejam excluídas do foco de pesquisa médico-científico, uma vez que o principal objetivo das ciências da saúde é promover um bem-estar físico, social, psicológico e emocional a todos.

## 8. REFERÊNCIAS

AGRA, M. F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil. **Rev Bras Farm.** v. 18, p. 472–508, 2008.

ALVES, L. D. S. et al. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, 33(1), 17-25. 2012.

BANSAL S.; SAHOO B.; GARG V. Psoralen–narrowband UVB phototherapy for the treatment of vitiligo in comparison to narrowband UVB alone. **Photodermatology, photoimmunology & photomedicine**, v. 29, n. 6, p. 311-317, 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos**. 2º ed. Brasília, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003**.

CESTARI, T. F.; PESSATO, S.; CORREA, G. P. Fototerapia – aplicações clínicas. **An Bras Dermatol**. v. 82, n. 1, p. 5-6, 2007.

CHAGAS, J. O. **Desenvolvimento e caracterização de micropartículas poliméricas como sistema carreador de nitrogênio, fósforo e potássio para plantas**. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2016.

CONSTANT, P. B. L. **Extração, caracterização e aplicação de antocianinas de açaí (*Euterpe oleraea*, M.)**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

CUNHA-FILHO, M. S. S. **Beta-lapachona: estudios de la preformulation y aproximaciones tecnológicas para su formulacion**. Tese de doutorado, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela (Espanha), 2007.

DELLATORRE G.; CAFRUNE F. E. Tratamento cirúrgico do vitiligo. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 8, n. 4, 2016.

DOPPALAPUDI, S. et al. Psoralen loaded liposomal nanocarriers for improved skin penetration and efficacy of topical PUVA in psoriasis. **Eur J Pharm Sci**. v. 96, p.515–29, 2017.

DUARTE, I; BEDRIKOW, R. B.; KOBATA, C. F. Fototerapia na psoríase. *In: Consenso Brasileiro de Psoríase*. **Sociedade Brasileira De Dermatologia**, v. u., p. 55-61, 2009

FARIA, R. A. P. G.; COELHO, M. F. B.; ALBUQUERQUE, M. C. F.; AZEVEDO R. Fenologia de *Brosimum gaudichaudii* trécul. (Moraceae) no Cerrado de Mato Grosso. **Ciência Florestal**. 25(1):67–75, 2015.

FERREIRA, A. L. **Extração e quantificação de antocianina em fruta e polpa de morango**. Iniciação Científica, Instituto Municipal de Ensino Superior do Município de Assis, Assis, 2014.

GROUP IEW. ICH Harmonised tripartite guideline. **Validation of analytical procedures: Text and methodology Q2 (R1)**. 2005.

HUNG, W.; SUH, J. H.; WANG, Y. Chemistry and health effects of furanocoumarins in grapefruit. **Jou Food Drug Analy**, v. 25, n. 1, p. 71-83, 2017.

KRÜGER, C.; SCHALLREUTER, K.U. A review of the worldwide prevalence of vitiligo in children/adolescents and adults. **Int J Dermatol**, v. 51, p. 1206-12. 2012.

KWOK Y. K. C.; ANSTEY A. V.; HAWK J. L. M. Psoralen photochemotherapy (PUVA) is only moderately effective in widespread vitiligo: a 10-year retrospective study. **Clinical and experimental dermatology**, v. 27, n. 2, p. 104-110, 2002.

LANNES, S. C. S.; MEDEIROS, M. L. Processamento de achocolatado de cupuaçu por spray-dryer. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 115-123, mar. 2003

LERNER, A. B.; DENTON, C. R.; FITZPATRICK, T. B. Clinical and Experimental Studies with 8-Methoxypsoralen in Vitiligo. **Jou Inv Derm**, v. 20, n. 4, p. 299-314, 1953.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Rev Bras Ciên Farm**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. C. **Caracterização de polímeros: determinação de peso molecular e análise térmica**. Editora E-papers, 2001.

LUEPKE, N. P. Hen's egg chorioallantoic membrane test for irritation potential. **Food and Chemical Toxicology**, v. 23, n. 2, p. 287-291, 1985.

MAXIMIANO F. P. *et al.* Benznidazole microcrystal preparation by solvent change precipitation and in vivo evaluation in the treatment of Chagas disease. **Eur J Pharm Biopharm**.78(3):377-84. 2011.

MELO, C.; SILVA-CUNHA, A.; FIALHO, S. Formas farmacêuticas poliméricas para a administração de peptídeos e proteínas terapêuticos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, América do Norte, 3326 02, 2013.

MEREGALLI, M. M. **Estudo comparativo de diferentes métodos de extração de compostos bioativos da casca do araçá-vermelho (*Psidium cattleianum sabine*)**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2017.

MIRANDA, A. R. **Estudo da eficácia, segurança e tolerabilidade do *Brosimum gaudichaudii* Trécul em indivíduos adultos portadores de vitiligo**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

MOHAMMED G. F.; GOMAA A. H.; AL-DHUBAIBI M. S. Highlights, in pathogenesis of vitiligo. **World J. Clin.** Casos v.3 p.221-230, 2015

NETTO, E. M. *et al.* Comentários sobre o registro de fitoterápicos. **Rev Fitos**, v.1, n. 3, p. 9-17, 2006.

NEVES, M. L. P. et al. Ensaio para detectar bergapteno na casca e no caule de *Brosimum gaudichaudii* Trec através da produção de melanina em actinomicetos. **Rev Bras Farmacog**, v. 12, supl., p. 53-4, 2002.

PATHAK M. A.; MOSHER D. B.; FITZPATRICK T. B. Safety and therapeutic effectiveness of 8-methoxypsoralen, 4,5',8-trimethylpsoralen, and psoralen in vitiligo. **Natl Cancer Inst Monogr**, v. 66, p. 165–73, 1984.

PAUDEL A. et al. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 253-284, 2013.

PEREIRA, E. B. C.; PEREIRA, A. V.; SILVA, D. B. V. R. Seedling growth of mamacadela (*Brosimum gaudichaudii* Trec.) on six different substrates. **Rev Bras PI Med**. v. 8, p. 190–2, 2006.

PI, C. et al. Polymer blends used to develop felodipine-loaded hollow microspheres for improved oral bioavailability. **International journal of biological macromolecules**, v. 112, p. 1038-47, 2018.

POZETTI G. L. *Brosimum gaudichaudii* Trecul (Moraceae): Da planta ao medicamento. **Rev Ciencias Farm Basica e Apl.**, v. 26, n. 3, p. 159–66, 2005.

PRISTA, L. V. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. Tecnologia Farmacêutica. 7. ed. Porto Alegre: Fundação Calouste Gulbenkian, 2008.

PubChem Compound Database. Bergapten. **National Center for Biotechnology Information**. 2018a. <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2355>>. Acessado em 20.03.2018

PubChem Compound Database. Coumarin. **National Center for Biotechnology Information**. 2018b. <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/323>>. Acessado em 20.03.2018

PubChem Compound Database. Furan. **National Center for Biotechnology Information**. 2018c. <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8029>>. Acessado em 20.03.2018

PubChem Compound Database. Psoralen. **National Center for Biotechnology Information**. 2018d. <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6199>>. Acessado em 20.03.2018

QUINTÃO, W. S. C. **Desenvolvimento de nanoemulsões como alternativa para o tratamento tópico de vitiligo com extrato de *Brosimum gaudichaudii***. Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília, Brasília (Brasil), 2018.

RANI, R. et al. Improvement of antihyperglycemic activity of nano-thymoquinone in rat model of type-2 diabetes. **Chemico-biological interactions**. 2018.

RASENACK, N.; MUELLER, B.W. Micron-Size Drug Particles: Common and Novel Micronization Techniques, **Pharm Dev Tech**, v. 9, p. 1-13, 2004.

ROCHA T. C. da. **Estudo termoanalítico de furanocumarinas de *Brosimum gaudichaudii* Trécul**. Dissertação – UFG. Goiânia. 2012.

ROCHA, M. S.; VIANA, N. B.; MESQUITA, O. N. DNA-psoralen interaction: A single molecule experiment. **J Chem Phys**, v. 121, p. 9679-83, 2004

RODRIGUES, F. A. et al. Obtenção de extratos de plantas do cerrado. **Enc Biosfera**, v. 13, n. 23, p. 870-87. 2016.

RODRIGUES, M. *et al.* Current and emerging treatments for vitiligo, **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 77, n. 1, p. 17, 2017

RODRIGUES, V. E. G. C. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande - Minas Gerais. **Ciênc agrotec**. v. 25, p. 102–23, 2001.

ROMANIUC-NETO, S. *et al.* *Moraceae* in: Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB19772>>. Acessado em 14.03.2018

SCOTT, B. R. Molecular and genetic basis of furocoumarin reactions. **Genetic Toxicology**. v, 39, p. 29–74

SILVA E.C. **Micropartículas: preparação e caracterização do encapsulamento de rifampicina**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade de Mogi das Cruzes, São Paulo, 2008.

SILVA-FILHO, O. P. da. **Obtenção de pellets a partir dos extratos líquidos padronizados de *Brosimum gaudichaudii* Trécul (Moraceae) ou *Lafoensia pacari* A. St.-Hil. (Lythraceae)**. Dissertação – UFG. Goiânia. 2014.

STECKEL, H.; RASENACK, N.; MULLER, B. W. In-situ-micronization of disodium cromoglycate for pulmonary delivery. **Eur. J. Pharm. Biopharm**, v. 55, p. 173-180, 2003.

STEINER D. *et al.* Vitiligo. **An. Bras. Dermatol.** v. 79, n. 3, p. 335-351, 2004

TANG, D.; et al. Psoralen stimulates osteoblast differentiation through activation of BMP signaling. **Biochem Bioph Res Com**, v. 405, n. 2, p. 256-61. 2011

TARLÉ R. G. *et al.* Vitiligo. **An Bras Dermatol.** v. 89, n. 3, p. 461-70, 2015

VAKA S. *et al.* Excipients for Amorphous Solid Dispersions. In: **Amorphous Solid Dispersions. Advances in Delivery Science and Technology**. Springer, New York, NY, p123-161, 2014.

VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste. Brasília, DF: **Ministério do Meio Ambiente**, 707-716, 2016.

VUSSUKI, E. *et al.* Long-term effects of PUVA therapy on Israeli patients with vitiligo. **Harefuah**, v. 145, n. 7, p. 483-5, 552, 551, 2006.

WANG, E. *et al.* Inhibition of P-Glycoprotein Transport Function by Grapefruit Juice Psoralen. **Pharm Res**, v. 18, p. 432-438. 2001.

XIN, D. *et al.* Phytoestrogens from *Psoralea corylifolia* reveal estrogen receptor-subtype selectivity. **Phytomedicine**, v. 17, n. 2, p. 126-31. 2010.

ZHOU, X.; ZHANG, G.; WANG, L. Probing the binding mode of psoralen to calf thymus DNA. **Int Jou Bio Mac**, v. 67, p. 228-37. 2014