

ESTUDO DA PERMEAÇÃO *IN VITRO* DE FORMULAÇÃO CONTENDO FOTOATIVO

Emanoel Pedro de Oliveira Silva¹, Paulo Roxo Barja², Luiz Eduardo Cardoso³,
Milton Beltrame Junior¹.

¹Laboratório de Síntese Orgânica. Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D – Universidade do Vale do Paraíba – São José dos Campos – São Paulo – Brasil.

²Laboratório de Fotoacústica Aplicado a Sistema Biológicos Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D – Universidade do Vale do Paraíba – São José dos Campos – São Paulo – Brasil.

³Núcleo de Farmácia e Biomedicina – NUFABI - Universidade do Vale do Paraíba – São José dos Campos – São Paulo – Brasil.

erapos@gmail.com, barja@univap.br, cardoso@univap.br, beltrame@univap.br

Resumo- No presente trabalho estudou-se da incorporação do Hidroxi-(29*H*, 31*H*-ftalocianato) de alumínio (PcAlOH) em formulações tópicas, avaliando sua estabilidade e sua absorção cutânea pela técnica de fotoacústica. O PcAlOH foi veiculado em uma emulsão, tendo avaliados seus parâmetros de estabilidade: pH, teste de estabilidade a curto e longo prazo (nas condições de estufa a 37 °C, geladeira a 5°C, exposição direta à luz solar e temperatura ambiente 25 ± 3°C por um período de 90 dias) e sua permeação cutânea em pele de orelha de porco pela técnica de fotoacústica. A Emulsão apresentou 7,6 e após a incorporação o pH manteve-se inalterado. Ao final do estudo do teste de estabilidade a curto e longo prazo não foram observados separações de fases, nem mudanças de pH, caracterizando a estabilidade nos períodos de tempo e condições de armazenamento estudados de 0 e 90 dias. O tempo típico de absorção do creme base e do creme com PcAlOH foram 182 ± 6 e 438 ± 3 segundos respectivamente. Conclui-se que as formulações contendo PcAlOH apresentaram características de estabilidade e mostraram resultados promissores de sua absorção na pele segundo à técnica de fotoacústica.

Palavras-chave: Fotoacústica, Ftalocianinas, Formulações Tópicas.

Área do Conhecimento: Farmácia

Introdução

A aplicação tópica de fármacos é conhecida como uma rota alternativa à administração oral e intravenosa, que oferece vantagens, tais como: fácil administração e ausência de efeito de primeira passagem, tanto visando à ação sistêmica quanto à ação local (GAO; SINGH, 1997; LIRA et al., 2004; AQIL et al., 2007). Muitos fármacos que não apresentam características físico-químicas apropriadas para a penetração cutânea acabam por ficar retidos nas primeiras camadas da pele, principalmente no estrato córneo, formado por queratinócito rodeados por camadas lipídicas (JESUS; FERREIRA; MENDONÇA, 2006) que atuam como uma barreira, que impede a entrada de agentes externos, dificultando a utilização dessa via para fins terapêuticos (SAPRA; JAIN; TIWARY, 2008).

A passagem de moléculas através da pele não depende só de sua natureza química, mas também da composição da formulação onde são incorporadas (CHORILLI et al., 2007). A veiculação de produtos farmacêuticos em formulações magistrais visa reduzir a ação da barreira cutânea, favorecendo a permeação do ativo medicamentoso através da pele.

Trabalhos como o de Kassab et al. (2000) e Tomazini et al. (2007), descrevem o uso de agentes fotossensibilizantes em formulações tópicas para o tratamento de doenças cutâneas. Kennedy; Pottier; Pross (1990) e Felício et al. (2008) obtiveram resultados promissores com o uso do ácido 5-aminolevulínico no tratamento de câncer de pele.

As ftalocianinas são moléculas análogas às porfirinas, classificadas como fotossensibilizadores de segunda geração, com forte absorção na faixa de espectro luminoso vermelho (670-780nm) (HOPPER, 2000; MARGARONE et al., 1996), o que confere a elas elevada ação fototerapêutica, promovendo a utilização de doses menores quando administrada, além de demonstrar ser um potencial agente fotossensível no tratamento de processos carcinogênicos (MACHADO, 2000).

A utilização de formulações tópicas contendo fotoativos derivados de porfirinas para a terapia fotodinâmica permite a restrição da fototoxicidade ao local de aplicação, diferentemente dos derivados porfirínicos sistêmicos, que causa fotossensibilidade durante, no mínimo, quatro semanas (FELICIO et al., 2008). Nesse trabalho nós descrevemos o estudo da incorporação de um fotossensibilizante em formulações tópicas e a

avaliação de sua absorção cutânea em peles de porco pela técnica fotoacústica.

Metodologia

O Hidroxi-(29*H*, 31*H*-ftalocianato) de alumínio (PcAlOH) (Figura 1) foi sintetizado e caracterizado no laboratório de Síntese Orgânica do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento – IP&D, localizado na Universidade do Vale do Paraíba (São José dos Campos-SP, Brasil). Carbopol® 940, Nipagin, Nipazol, Lanette N, Cetiol V e Trietanolamida foram adquiridos da ViaFarma (Brasil). Propilenoglicol foi adquirido pela Vetec (Brasil), o Óleo mineral foi adquirido da RioQuímica e o Germall® Plus adquirido da International Specialty Products (ISP) (Estados Unidos). As análises de pH foram feitas no pHmetro eletrônico (Micronal, B474). Os ensaios de centrifugação foram feitos na Microcentrifuga (Minispin®).

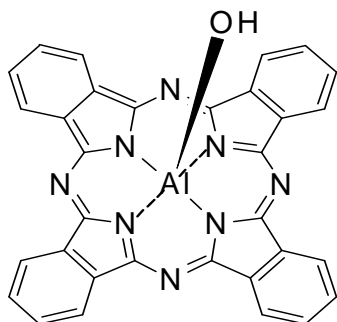


Figura 1 - Estrutura molecular do Hidroxi-(29*H*, 31*H*-ftalocianato) de alumínio (PcAlOH).

As formulações foram desenvolvidas no laboratório no Núcleo de Farmácia e Biomedicina - NUFABI – situado na Universidade do Vale do Paraíba tendo como base às formulações descritas por Lira et al. (2004) e Gaspareto et al. (2007), veiculando o Hidroxi-(29*H*, 31*H*-ftalocianato) de alumínio (PcAlOH) nas formulações descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Formulação da Emulsão

Emulsão	Componentes	(%)
Fase oleosa	Lanette N	15
	Cetiol V	3
	Óleo Mineral	2
	Nipazol	0,05
Fase aquosa	Propilenoglicol	5
	Nipagin	0,15
	Água	qsp

O pH das formulações foi determinado antes e após a incorporação do fármaco no pHmetro eletrônico. Para o teste de estabilidade de curto prazo foram colocadas amostras das formulações em ependorfes e centrifugadas a 3000 rpm por 20 minutos. Os testes de estabilidade de longo prazo foram feitos em duplicata nas condições: estufa elétrica a 37° C por período de 90 dias, geladeira a 5° C por período de 90 dias; exposição direta à luz solar por período de 90 dias e temperatura 25 ± 3°C ambiente por 90 dias (KHAN; AHUJA; ALI, 2010). Após 90 dias as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 20 minutos.

Os estudos da permeação foram feitos num sistema fotoacústico no laboratório de Fotoacústica Aplicada a Sistemas Biológicos do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D) da Universidade do Vale do Paraíba, Campus Urbanova em São José dos Campos (SP-Brasil) seguindo a metodologia adaptada de Anjos et al. (2005) e Rossi et al. (2008), usando pele de orelha de porco dessecada como barreira cutânea.

Resultados

No ensaio de estabilidade a curto (em seguida a preparação) e em longo prazo (estufa elétrica a 37° C por período de 90 dias geladeira a 5° C por período de 90 dias; exposição direta à luz solar por período de 90 dias e temperatura ambiente 25 ± 3°C por 90 dias), as formulações quando submetidas à centrifugação a 3000 rpm por um tempo de 20 minutos não apresentaram a separação de fases. A incorporação do PcAlOH não interferiu na estabilidade nos períodos de tempo e condições estudadas.

A emulsão apresentou pH 7,6, e após a incorporação os pHs mantiveram-se inalterados.

Os dados experimentais obtidos pela técnica de fotoacústica foram armazenados no computador e as curvas de ajuste geradas através do programa Origin 8® (Microcal Software Inc).

O perfil de absorção foi determinado através do ajuste inicial pela equação de Boltzman, seguido da função de Gaussiana dupla, avaliando a cinética de penetração do produto em função do tempo (Tabela 2).

Tabela 2 - Tempo típico de absorção em segundos (t_a) e seu coeficiente de determinação (r^2) para a emulsão base (n=5) e emulsão com PcAlOH (n=6)

	Emulsão base	Emulsão+PcAlOH
t_a	182 ± 6	438 ± 3
r^2	182 ± 6	0,958

Discussão

A escolha de um sistema adequado para incorporação de fármacos é de fundamental importância para a estabilidade, para a disponibilidade no local de aplicação e, conseqüentemente, para a obtenção dos efeitos terapêuticos esperados (SATO et al., 2007).

Os testes de estabilidade das formulações farmacêuticas e cosméticas buscam fornecer informações de estabilidade do produto simulando diversos ambientes que levam a estimar o prazo de validade, bem como o melhor local de armazenamento (FRANGE; GARCIA, 2009).

A ausência de separação de fases nas formulações estudadas não assegura sua estabilidade, somente indica que o produto pode ser submetido às demais etapas do estudo, sem necessidade de desenvolver uma nova formulação e passar por novos testes de estabilidade (ISAAC et al., 2008).

O pH desenvolvido pela emulsão é mais alcalino do que o encontrado na pele (4,6 a 6,5) (ISAAC et al., 2008), que apesar de indesejável pela pele (podendo ocasionar irritação ao local de aplicação) não é capaz de danificá-la devido ao sistema tampão existente na pele que faz com que o pH retorne ao normal, em média, 2 horas após o uso de cosméticos que apresenta pH básico (PEYREFITTE et al., 1998).

Segundo Bernengo et al. (1998) e Barja; Veloso (2010), a técnica fotoacústica é uma opção para ao estudo da cinética de penetração de produtos topicamente aplicados. O sinal fotoacústico permite, por exemplo, monitorar a cinética de desidratação da pele (COSTA et al., 2009); com isso, houve a necessidade de que as peles de porco fossem dessecadas previamente para que não houvesse a interferência do sinal de desidratação com a absorção da formulação.

Em ambos os casos apresentados na Tabela II o coeficiente de determinação é próximo de um, mostrando que os seus dados estão correlacionados. Foi encontrada uma diferença nos tempos de absorção típica entre a emulsão base e a emulsão com PcAlOH, essa diferença é atribuída à absorção do PcAlOH se comparado ao tempo da emulsão base.

Conclusão

Com esse estudo é possível concluir-se que as formulações contendo PcAlOH apresentaram características de estabilidade e mostraram resultados promissores quanto a absorção na pele. Foi observado também que a presença do agente fotossensível na formulação contribuiu significativamente para um tempo de absorção

maior do que observado na formulação base. Como se trata de um estudo inicial serão necessários novos estudos comparativos com outras formulação, a fim de propor o veículo ideal a PcAlOH.

Agradecimentos

A FAPESP pelo apoio financeiro, ao CNPq pela bolsa concebida No. 109383/2010-9 e Sabrina Barbosa Pinto pelo o auxílio com os experimentos fotoacústicos.

Referências

ANJOS, F. H. et al.. Sunscreen effects in skin analyzed by photoacoustic spectroscopy. **J. de phy. IV**, França, v. 125, p. 797-799, 2005.

AQIL, M.. et al. Status of terpenes as skin penetration enhancers. **Drug. discov. today**, Oxford, v.12, n. 23/24, p.1061-1067, Dez. 2007.

BERNENGO, G et al. Photoacoustics as a tool for cutaneous permeation studies. **High temp. high press.**, London. v.30, n.5, p 619-62, 1998.

BARJA, P. R.; VELOSO, D. J. D. V. Photoacoustic study of the penetration kinetics of nimesulid into human skin. **J. phys.: conf. ser.**, London, v. 214, p. 012017, 2010. doi: [10.1088/1742-6596/214/1/012017](https://doi.org/10.1088/1742-6596/214/1/012017)

COSTA, C. R. L. et al. Proposta de caracterização fotoacústica do nível de oleosidade da pele. **Revista Varia Scientia**, Cascavel, v. 8, n. 14, p.67-80, 2009.

CHORILLI, Marlus et al. Aspectos gerais em sistemas transdérmicos de liberação de fármacos. **Rev. bras. farm.**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 88, p.7-13, 2007.

FELICIO, L. B. A. et al . A terapia fotodinâmica com ácido 5-aminolevulínico como modalidade de tratamento para neoplasias cutâneas não-melanoma. **An. bras. dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 83, n. 4, ago, 2008 .

FRANGE, R. C. C.; GARCIA, M. T. J. Desenvolvimento de emulsões óleo de oliva/água: avaliação da estabilidade física. **Rev. ciênc. farm. básica apl.**, Araraquara, v. 30, n. 3, 2009.

GAO, S.; SINGH, J. Mechanism of transdermal transport of 5-fluorouracil by terpenes: carvone, 1,8-

cineole and thymol. **Int. j. pharm.**, Amsterdam, v. 154, n. 1, p.67-77, 1997.

HOPPER C. Photodynamic therapy: a clinical reality in the treatment of cancer. **Lancet oncol.**, London, v.1, p 212–219, Dec. 2000.

ISAAC, V.I.B et al. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. ciênc. farm. básica apl.**, Araraquara, v. 29, n. 1, p.81-96, 2008.

JESUS, G. S.; FERREIRA, A.; MENDONÇA, A. C.. Fonoforese x Permeação Cutânea. **Fisioter. mov.**, Curitiba, v. 19, n. 4, p.83-88, 2006.

KASSAB, K., et al. Skin-photosensitizing properties of Zn(II)-2(3), 9(10), 16(17), 23(24)-tetrakis-(4-oxy-N-methylpiperidinyl) phthalocyanine topically administered to mice. **J. photochem. photobiol. b: biol.**, Lausanne, v. 55, n. 2-3, p.128-137, 2000.

KENNEDY, J. C., POTTIER, R. H, PROSS, D. C. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrins IX: basic principles and present clinical experience. **J. photochem photobiol b.**, Lausanne, v. 6, n. 1-2, p. 143-148, 1990.

KHAN, H., et al. Stability Testing of Pharmaceutical Products - Comparison of Stability Testing Guidelines. **Current Pharmaceutical Analysis**, v 6, n. 2, p. 142-150, May, 2010

GASPARETTO, A.; et al. . Extracts from *Alternanthera maritima* as natural photosensitizers in photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). **J. photochem. photobiol. B.**, Lausanne, v. 99, p. 15-20, 2010.

LIRA, A. A. M, et al. Desenvolvimento preliminar de gel de lapachol: estudo de permeação *in vitro*. **Rev. bras. cienc. farm**, São Paulo, v. 40, nº 1, jar/mar, 2004.

MACHADO, A. E. H. Terapia fotodinâmica: Potencial de aplicação e perspectivas. **Quím. nova**, São Paulo, v. 2, n. 23, p.237-243, 2000.

MARGARONE P, et al. Structure-photodynamic relationships of a series of 4-substituted zinc phthalocyanines. **Photochem photobiol**, Oxford, v. 63, nº 63, p.217–223, 1996.

PEYREFITTE, G. **Cosmetologia**: biologia geral, biologia geral da pele. São Paulo: Andrei, 1998. p.88-90.

ROSSI, R.C.P. et al. Photoacoustic study of percutaneous absorption of Carbopol and transdermic gels for topic use in skin. **Eur. Phys. J.:** Special Topics, Heidelberg, v. 153, n. 1, p.479-482, Jan. 2008.

SAPRA, B.i; JAIN, S.; TIWARY, A. K.. Percutaneous permeation enhancement by terpenes: Mechanistic view. **Aaps j.**, Arlington, v. 10, n. 1, p.120-132, Mar. 2008.

SATO, M. E. O. et al. Permeação cutânea in vitro do ácido kójico. **Rev. bras. cienc. farm**, São Paulo, v. 43, n. 2, p.195-203, 2007.

TOMAZINI, M. V. et al. Terapia fotodinâmica com ftalocianina de zinco tópica: avaliação da intensidade de fluorescência, absorção cutânea, alterações histológicas e imuno-histoquímicas na pele do modelo animal. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 6, Dec. 2007 .