

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

A influência do D-limoneno como promotor de absorção do ácido 5-aminolevulínico para Terapia Fotodinâmica do câncer de pele: avaliação *in vitro* e *in vivo* da permeação e retenção cutâneas

Wagner Luiz Heleno Marcus Bertolini

Ribeirão Preto
2009

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

A influência do D-limoneno como promotor de absorção do ácido 5-aminolevulínico para Terapia Fotodinâmica do câncer de pele: avaliação *in vitro* e *in vivo* da permeação e retenção cutâneas

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para a obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientado: Wagner Luiz Heleno Marcus Bertolini

Orientadora: Profa. Dra. Maria Vitória Lopes Badra Bentley

Ribeirão Preto
2009

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que eu pudesse alcançar este momento. Todos que participaram, de qualquer forma que tenha sido, creio que deixaram um pouco de si para que eu realizasse mais uma etapa em minha vida.

Em especial à minha esposa Lucimara e à minha filha Ludmila.

AGRADECIMENTOS

Em momentos de agradecimentos muitas vezes podemos ser injustos e incorrer no erro de esquecimento de alguém que tenha contribuído. Porém, àqueles que participaram mais frequentemente e contribuíram em vários aspectos e etapas deste trabalho, meu mais simples e sincero obrigado.

Ao técnico de laboratório José Oreste Del Ciampo, o primo, pela ajuda principalmente nas dermatomizações.

Ao técnico de laboratório Henrique Diniz, o primo II, pela ajuda no que se refere aos animais do biotério, entre outras.

Às colegas doutorandas Fábria Rosseti e Aline Carollo pelo auxílio e disposição em me ajudarem nas técnicas empregadas.

Um agradecimento especial à minha orientadora Vitória que, no início desta tese era minha orientadora e já no decorrer desta não era mais: havia se tornado uma referência em minha vida pessoal, me incentivando em momentos muito difíceis a seguir em busca da realização pessoal e da felicidade que alcancei ao me tornar pai.

À minha esposa Lucimara, que sempre me orienta, me ensina, me fortalece e contribui das mais diversas formas.

Às colegas Ana Luiza Degani e Raquel Tassara, que me auxiliaram e me incentivaram a não desistir da batalha deste trabalho.

E agradecer a Deus pelo presente ofertado, que foi a chegada de minha filha Ludmila. Chegou como um raio de luz irradiando felicidade e alegria a todos que a conhecem. E agora, também, pela conclusão de mais uma etapa em minha vida acadêmica.

Muito Obrigado a todos!!!!!!

EPÍGRAFE

"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.

Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.

Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver ..."

Martin Luther King

RESUMO

BERTOLINI, WAGNER L. H. M. **A influência do D-limoneno como promotor de absorção do ácido 5-aminolevulínico para Terapia Fotodinâmica do câncer de pele: avaliação *in vitro* e *in vivo* da permeação e retenção cutâneas.** 2009 118f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

O câncer é a segunda doença principal do planeta, muito próximo de se tornar a mais incidente. Os tratamentos tradicionais do câncer, tais como cirurgia, radioterapia e quimioterapia apresentam severos efeitos colaterais ao paciente devido à citotoxicidade que podem causar às células normais, além das cancerosas. Objetivando minimizar estes efeitos indesejáveis pesquisadores de diversas áreas afins vislumbram novas técnicas, novos tipos e formas de tratamentos que apresentem um melhor perfil terapêutico; que possam agir de forma mais seletiva contra as células cancerosas, minorando os efeitos indesejáveis em relação às células saudáveis. Dentre as técnicas pesquisadas destaca-se a Terapia Fotodinâmica (TFD). Esta é uma técnica de tratamento nova e promissora. A técnica do tratamento consiste em aplicar, no tecido alvo, substâncias fotossensibilizantes, posteriormente ativadas com luz de comprimentos de onda específicos, com a finalidade de produzir destruição celular, por meio da ação de produtos citotóxicos fotoativados. Destaca-se a seletividade apresentada pela técnica, que deve ser reconhecida como uma das vantagens entre as técnicas empregadas no tratamento do câncer. O presente trabalho objetiva verificar a influência do D-limoneno como promotor de permeação do ácido 5-aminolevulínico (5-ALA) em aplicação tópica. Isto visa aumentar a permeação do 5-ALA quando aplicado topicamente. O 5-ALA é convertido a protoporfirina-IX (PpIX) pela via do ciclo Heme. Esta é um potente agente fotossensibilizador endógeno. O interesse no uso deste promotor foi aumentar a taxa de penetração do 5-ALA, possibilitando a permeação de maiores quantidades do fármaco em questão. Para isto foram realizados estudos de permeação *in vitro* do 5-ALA, em concentração de 1% (p/p) utilizando-se formulações (emulsões O/A) com diferentes concentrações do promotor D-limoneno (0, 5, 10, 20 e 30%), (p/p). Observou-se que o fluxo *in vitro* do 5-ALA através da pele de orelha de porco aumentou para todas as formulações empregadas quando comparado ao controle, sem D-limoneno, para um período de estudo de 12h. A retenção no estrato córneo e na [epiderme + derme] apresentou aumento

significativo, evidenciando, assim, um efeito eficiente do D-limoneno como promotor. Experimentos *in vivo* foram conduzidos em camundongos objetivando a análise do efeito da formulação na produção e acúmulo de PpIX na pele. Observou-se que o D-limoneno aumentou significativamente a quantidade de PpIX extraída da pele. Os resultados *in vitro* e *in vivo* mostraram o potencial do D-limoneno como promotor de absorção cutânea para o 5-ALA para a TFD tópica do cancer de pele.

Palavras chave: 1. câncer de pele. 2. Terapia fotodinâmica. 3. promotor de permeação. 4. D-limoneno. 5- Ácido 5-aminolevulínico (5-ALA)

ABSTRACT

BERTOLINI, WAGNER L. H. M. D-limonene influence in the cutaneous penetration enhancer for 5-aminolevulinic acid in photodynamic therapy of skin cancer: *in vitro* and *in vivo skin* permeation and retention studies. 2009 118f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

The topical administration of 5-ALA has been distinguished on skin cancer photodynamic therapy (PDT) because of its efficiency in the treatment of tumors and the reduced phototoxic collateral effects. However, this effectiveness is limited by its low penetration in the skin. A proposal to optimize the 5-ALA penetration in the skin is the use of cutaneous penetration enhancers, which seek to alter the cutaneous barrier for many bioactive molecules. The aim of this work was the pharmaceutical development of formulations containing D-limonene as a cutaneous penetration enhancer, seeking the increase of the cutaneous penetration of 5-ALA for skin cancer PDT. The *in vitro* flux of 5-ALA present in 1% (w/w) from different formulations containing D-limonene (20 e 30% w/w) was significantly increased after 12 hours of experiment, in comparison with formulations without D-limonene, mainly for the formulations containing 20% and 30% of D-limonene with 1% of 5-ALA (1,45 and 2,01 times, respectively). The stratum corneum (SC) and [epidermis + dermis] without SC retention were also significantly increased, showing an enhancer effect of the promoter. In addition, *in vivo* experiments were accomplished in mice, with the purpose of analyzing the formulation effect on the PpIX production and accumulation in the skin. It was observed that the penetration enhancer's presence significantly increased the amount of PpIX extracted from the skin. Both *in vitro* and *in vivo* results showed the potentiality of the formulations containing D-limonene as a cutaneous penetration enhancer for 5-ALA delivery on the skin cancer PDT.

Key words: 1) 5-aminolevulinic acid. 2) D-limonene. 3) Photodynamic therapy. 4) penetration enhancers. 5) Skin cancer

1. INTRODUÇÃO

A palavra câncer (neoplasia) está associada ao sinônimo de sequelas, sofrimento e morte, para a maioria das pessoas. A desinformação ou falta do uso de métodos de prevenção, por parte da população, constitui uma das principais barreiras para enfrentar esse mito e prevenir a atual situação do câncer no Brasil e no mundo: a segunda causa de morte por doença.

As neoplasias podem ser definidas como proliferações desorganizadas de células, que apresentam um crescimento autônomo e perda da diferenciação celular. Este tipo de célula evolui independentemente dos mecanismos que, normalmente, controlam a proliferação e a diferenciação celular, transformando o organismo em uma espécie de hospedeiro de células neoplásicas. Os agentes causadores das neoplasias podem ser físicos, químicos ou biológicos, sendo responsáveis por modificações genéticas das células que proliferam sem controle (LOPEZ *et al.*, 2003).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), se medidas urgentes não forem tomadas, o câncer passará a ocupar o primeiro lugar em mortalidade até 2020, principalmente nos países em desenvolvimento.

Cerca de dois milhões de novos casos são diagnosticados anualmente no mundo todo, e a expectativa é de que esses números continuem a aumentar (NA *et al.*, 2001). A maior parte está associada à exposição excessiva a radiação ultravioleta e, por isso, os cânceres de pele são mais comuns na face e nas áreas do corpo que ficam mais expostas (MELNIKOVA *et al.*, 2005).

O câncer de pele é um dos tipos mais frequentes da doença no Brasil. Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (Inca) do Ministério da Saúde, mais de 113 mil pessoas apresentarão diagnóstico positivo da doença neste ano, no país. Nos Estados Unidos, o número de novos casos beira um milhão de pessoas com câncer todos os anos. Um estudo coordenado por dermatologista da Mayo Clinic, nos Estados Unidos da América, revelou que nos últimos 30 anos houve um aumento de 74% no número de pessoas com menos de 40 anos com câncer de pele. Apesar de o câncer de pele surgir com mais frequência na cabeça e no pescoço (90%), o estudo mostrou que em 40% dos casos a doença aparece em outras partes do corpo, refletindo os descuidos durante o banho de sol (CHRISTENSON *et al.*, 2005).

O aumento do número de casos de câncer de pele decorre do aumento da exposição solar, seguida do descuido com fatores de fotoproteção e falta do uso de medidas de prevenção por parte de grande parcela da população. É muito comum

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

