

# **AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE CELULAR DOS CREMES BASE DE PENTRAVAN E LANETTE ASSOCIADOS À AMITRIPTILINA E AO DICLOFENACO DE SÓDIO**

**Palavras-Chave:** AMITRIPTILINA, ANALGESIA, LANETTE, PENTRAVAN.

**Autores(as):**

**HUGO ABRITTA REIS, FOP – UNICAMP**

**THOMAS BARBIN, FOP - UNICAMP**

**VICTOR AUGUSTO BENEDICTO DOS SANTOS, FOP - UNICAMP**

**Prof. Dr. SIDNEY FIGUEROBA RAIMUNDO, FOP - UNICAMP**

**Prof. Dr. FRANCISCO CARLOS GROppo (orientador), FOP - UNICAMP**

---

## **INTRODUÇÃO:**

O uso de anti-inflamatórios sistêmicos e antidepressivos é largamente empregado para o controle de dores orofaciais, porém possuem efeitos adversos bem documentados. Por esse motivo, é interessante o uso de medicamentos de uso tópico, visando diminuir os efeitos adversos dessas medicações.

A amitriptilina é um antidepressivo tricíclico amplamente utilizado para o tratamento de dores orofaciais crônicas. É apontada como o padrão-ouro para o controle dessas dores, porém pode apresentar alguns efeitos adversos indesejados em doses elevadas, como hipotensão postural, sedação e hepatotoxicidade (Watson, 2000).

O diclofenaco de sódio é um anti-inflamatório não esteroide e é amplamente utilizado topicamente como via de administração, porém a sua biodisponibilidade e máxima concentração plasmática após a aplicação tópica geralmente são inferiores ao seu uso via oral (Heyneman et al., 2000).

O creme Lanette é uma base farmacêutica amplamente difundida e apresenta uma boa estabilidade para incorporação de ativos em pH ácido. Seu objetivo é servir de veículo para ativos hidrofílicos ou lipofílicos para serem aplicados topicamente, e o Lanette é caracterizado como uma emulsão óleo em água (Souza et al., 2020). Já o PentraVan, é um gel transdérmico pronto para uso que foi desenvolvido com o objetivo de melhorar o transporte de drogas quando usadas topicamente. É usado como carreador de substâncias ativas em terapias hormonais e analgésicas (Ossowicz-Rupniewska et al., 2021) e apresenta uma boa capacidade de permeação através dos tecidos, levando consigo o fármaco incorporado a ele, além de o gel possuir elevada afinidade à membrana plasmática celular (Fagron PentraVan®, 2020).

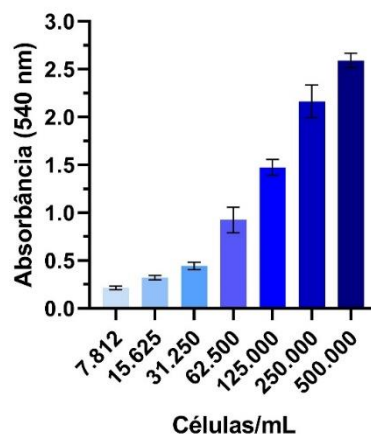
Ainda não existe no mercado uma formulação que associa o padrão ouro para dores orofaciais (Amitriptilina) com a base transdérmica PentraVan. Com isso, o objetivo principal desse projeto foi avaliar a viabilidade celular da linhagem HaCaT (queratinócitos humanos imortalizados) exposta aos cremes base pentraVan (PEN) e lanette (LAN) com amitriptilina (AM) e diclofenaco de sódio (DS), por meio do ensaio de redução de MTT.

## METODOLOGIA:

Para a produção dos cremes, os princípios ativos (Amitriptilina e Diclofenaco de Sódio) foram incorporados às bases (Pentran e Lanette) por meio de diluições geométricas. A viabilidade celular foi determinada considerando as bases com e sem os princípios ativos.

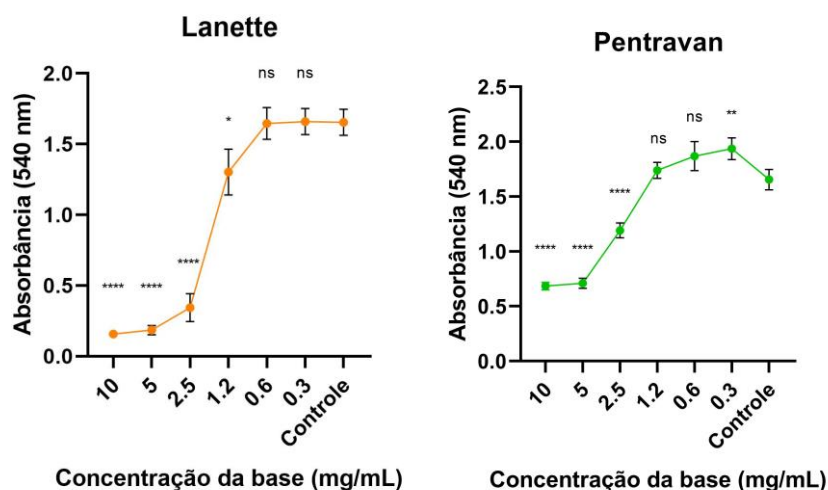
As células HaCaT foram cultivadas em meio DMEM suplementado e mantidas em uma cultura em monocamada em 5% de CO<sub>2</sub>, a 37°C, em meio Eagle Modificado por Dulbecco, em estufa de CO<sub>2</sub> a 37°C. A densidade celular escolhida para os experimentos foi de 62.500 células/mL. Essa concentração foi obtida em uma curva de semeadura (500.000 a 7.812 células/mL) em 100 µL para cada poço, a qual resultou numa absorbância padronizada entre 0,75 e 1,25 em 24 horas de experimento (Gráfico 1), utilizando a redução de MTT.

**GRÁFICO 1.** Densidade Celular HaCaT em meio DMSO



Posteriormente, as células foram submetidas ao contato com as bases sem os princípios ativos, visando obter a concentração não tóxica às células (Gráfico 2).

**GRÁFICO 2.** Viabilidade celular nas Bases Lanette e Pentran

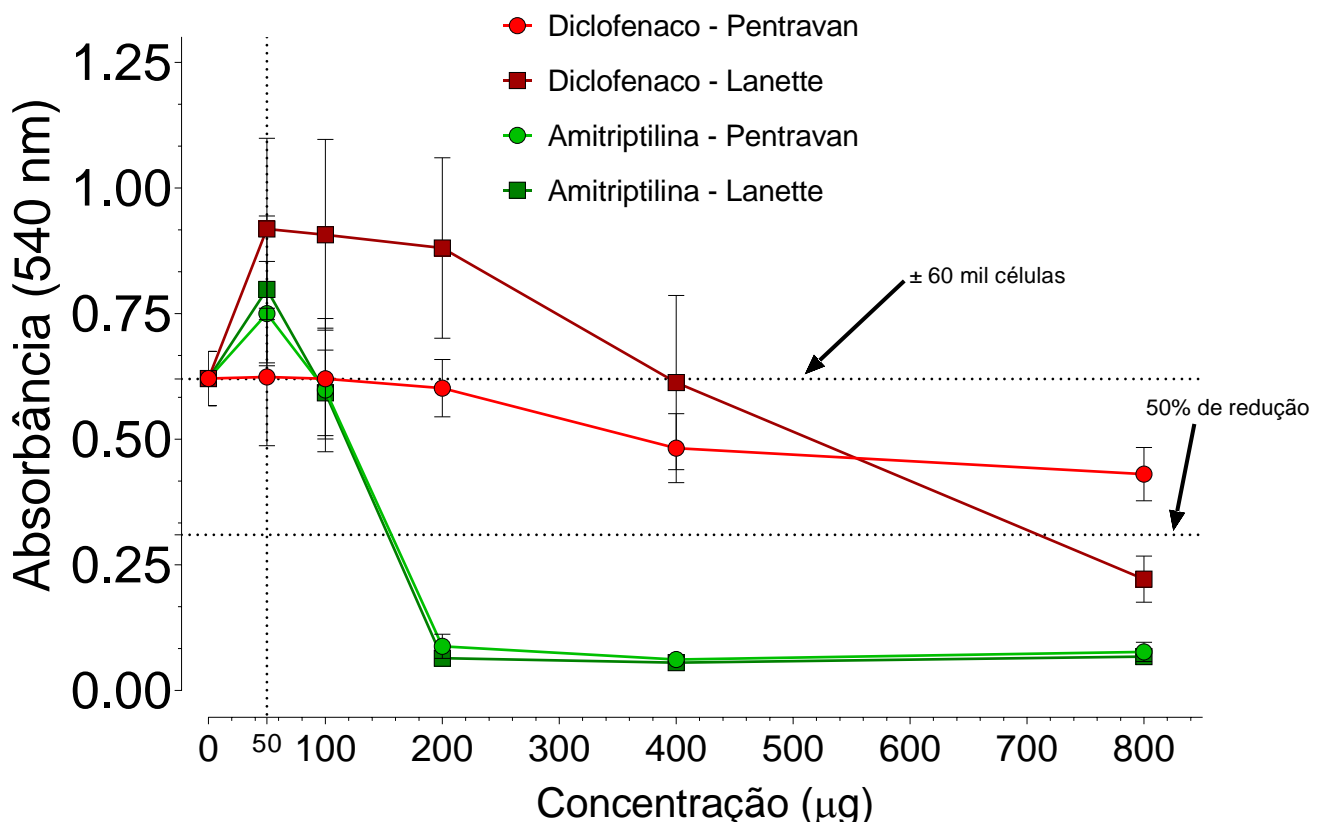


A concentração de 0,6mg/ml foi determinada de acordo com os resultados, sendo a concentração em comum mais adequada entre as bases. Em seguida, os fármacos foram incorporados às bases e as células foram expostas aos tratamentos por 24 horas. Depois, os tratamentos foram removidos e as células expostas à solução de MTT por 4 horas, formando cristais que foram dissolvidos em DMSO para serem lidos em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 540 nm.

## RESULTADOS:

Após a leitura no espectrofotômetro, os resultados obtidos foram transformados em um gráfico (Gráfico 3). Depreende-se que o aumento da concentração dos fármacos associados às bases gera uma queda na viabilidade celular. Quando as bases estão associadas à amitriptilina, a queda na viabilidade se apresentou mais cedo quando comparada ao diclofenaco. Além disso, as bases não apresentaram diferenças significativas sobre a viabilidade celular.

**GRÁFICO 3.** Viabilidade celular nas amostras de amitriptilina e diclofenaco de sódio associados ao Pentravan e Lanette.



A two-way ANOVA (teste de Tukey, *post hoc*) mostrou que, no geral, não houve diferenças estatisticamente significantes ( $p > 0,05$ ) no número de células entre as concentrações de diclofenaco associados ao Pentravan, embora a concentração de 800 µg reduziu as células quando comparada à concentração 0 µg ( $p < 0,0001$ ) e 200 µg ( $p = 0,0271$ ). Quando o diclofenaco era adicionado ao Lanette, a concentração 800 µg também reduziu as células quando comparada a todas as demais concentrações. Em concentrações de até 200 µg, o diclofenaco foi bem tolerado e não causou danos às células, independentemente do veículo.

A amitriptilina causou drástica redução ( $p < 0,0001$ ) das células, em ambas as formulações de forma praticamente idêntica, para as concentrações maiores que 100 µg. Nas concentrações entre 50 e 100 µg, não houve danos marcantes nas células, independentemente do veículo.

## DISCUSSÃO:

A biocompatibilidade de produtos cosméticos e farmacêuticos é um dos aspectos cruciais para garantir a segurança. Os dois veículos utilizados neste estudo são utilizados frequentemente em formulações dermatológicas e sua biocompatibilidade foi comprovada em

outros estudos. Quando aplicado na pele, o creme Lanette apresenta baixa irritabilidade e sensibilização, tornando-o apropriado para uso em diversas condições dermatológicas, incluindo pele sensível e seca. Em um estudo realizado por Schaefer et al. (2017), os pesquisadores avaliaram a resposta cutânea em voluntários após a aplicação do creme, observando que não houve reações adversas significativas, reforçando sua segurança para uso dermatológico. Além disso, a biocompatibilidade é frequentemente avaliada por meio de testes *in vitro* e *in vivo*. A norma ISO 10993, que estabelece diretrizes para a avaliação biológica de dispositivos médicos, pode ser adaptada para a análise de produtos cosméticos, como os veículos usados neste estudo. A aplicação desses testes ajuda a garantir que os produtos não induzam resposta inflamatória ou toxicidade celular (López et al., 2020).

A toxicidade dos compostos utilizados aqui pode ajudar a entender os resultados obtidos. A amitriptilina pode induzir toxicidade em células neuronais, afetando a viabilidade celular e a função mitocondrial. Segundo um estudo de Moreira et al. (2018), a exposição a concentrações elevadas de amitriptilina resultou em morte celular em culturas de neurônios, com mecanismos que incluem estresse oxidativo e disfunção mitocondrial. A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) foi identificada como um dos principais fatores contribuidores para a toxicidade observada. Além disso, a amitriptilina tem mostrado efeitos citotóxicos em células não neuronais, como fibroblastos e células endoteliais. Um estudo conduzido por Kato et al. (2019) demonstrou que a amitriptilina pode causar alterações na morfologia celular e inibir a proliferação celular em concentrações elevadas, sugerindo que sua toxicidade não se limita ao sistema nervoso central. Assim, já eram esperados os resultados obtidos aqui, os quais se mostraram dose-dependentes. De fato, a toxicidade da amitriptilina pode ser influenciada por fatores como a dose e a duração da exposição. Em doses terapêuticas, os efeitos adversos são geralmente limitados, mas em casos de overdose, a toxicidade pode ser severa, levando a complicações como arritmias cardíacas e depressão respiratória (Baldessarini et al., 2019).

O diclofenaco é um anti-inflamatório não esteroide (AINE) amplamente utilizado para o tratamento da dor e inflamação em diversas condições, como artrite e lesões musculoesqueléticas. Apesar de sua eficácia, a toxicidade celular associada ao uso de diclofenaco tem sido objeto de crescente preocupação, especialmente em relação a seus efeitos em células hepáticas, renais e outras linhagens celulares. De acordo com Kadioglu et al. (2019), a exposição a diclofenaco em concentrações elevadas resultou em estresse oxidativo, morte celular e disfunção mitocondrial em hepatócitos. Os pesquisadores observaram que a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a ativação de vias apoptóticas foram mecanismos principais envolvidos na toxicidade hepática.

Além dos efeitos no fígado, o diclofenaco também tem mostrado toxicidade em células renais. Um estudo realizado por Kocak et al. (2020) indicou que o diclofenaco pode causar necrose tubular aguda em células do túbulo renal, com alterações morfológicas e funcionais significativas. A pesquisa sugere que a toxicidade renal está relacionada à inibição da síntese de prostaglandinas, que são cruciais para a manutenção da perfusão renal. Adicionalmente, a toxicidade celular do diclofenaco não se limita a tecidos específicos. Em um estudo de Aydin et al. (2021), foi demonstrado que o diclofenaco pode induzir morte celular em culturas de células endoteliais, afetando a viabilidade celular e a função endotelial. Esses efeitos podem contribuir para complicações cardiovasculares associadas ao uso prolongado de AINEs. Da mesma forma que a amitriptilina, a toxicidade do diclofenaco pode ser influenciada por fatores como a dose e a duração da exposição.

A influência da dose ficou patente nos resultados observados no presente estudo, sendo que tanto a amitriptilina quanto o diclofenaco, nas concentrações utilizadas, mostraram toxicidade sobre a linhagem celular.

## **CONCLUSÃO:**

Podemos concluir que não houve influência dos cremes, tanto o Pentravan quanto o Lanette, sobre a toxicidade da amitriptilina e do diclofenaco. A toxicidade da amitriptilina e do diclofenaco foi aceitável nas menores concentrações utilizadas. Considerando a toxicidade celular, os dois veículos se mostraram viáveis. Devido a maior e melhor capacidade de permear os tecidos, o Pentravan é uma alternativa promissora para ser usado em controle de dores orofaciais quando associado a fármacos anti-inflamatórios.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Aydin, A., et al. (2021). "The cytotoxic effects of diclofenac on human endothelial cells." *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 81, 103410.
- Baldessarini, R. J., et al. (2019). "Antidepressant efficacy and safety: A review of the literature." *Psychiatric Services*, 70(5), 423-431.
- Draelos, Z. D. (2014). *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*. Wiley-Blackwell.
- Fagron Pentravan®. Eficácia comprovada em absorção transdérmica. 2020, Disponível em: <http://www.fagron.com.br>.
- Heyneman CA, Lawless-Liday C, Wall GC. Oral versus topical NSAIDs in rheumatic diseases: a comparison. *Drugs*. 2000 Sep;60(3):555-74.
- Kadioglu, H., et al. (2019). "Diclofenac-induced oxidative stress and apoptosis in rat hepatocytes." *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(9), 660-668.
- Kato, T., et al. (2019). "Cytotoxic effects of amitriptyline on fibroblasts and endothelial cells." *Journal of Pharmacological Sciences*, 139(2), 142-150.
- Kocak, M., et al. (2020). "The effects of diclofenac on renal tubular cells: An in vitro study." *Journal of Nephrology*, 33(3), 505-514.
- López, M., et al. (2020). "Biocompatibility testing of cosmetic products: An overview." *Cosmetics*.
- Moreira, F. A., et al. (2018). "Amitriptyline induces oxidative stress and cell death in neuronal cultures." *Neuroscience Letters*, 675, 122-128.
- Ossowicz-Rupniewska P, Nowak A, Kleboko J, Janus E, Duchnik W, Adamiak-Giera U, Kucharski Ł, Prowans P, Petriczko J, Czapla N, Bargiel P, Markowska M, Klimowicz A. Assessment of the Effect of Structural Modification of Ibuprofen on the Penetration of Ibuprofen from Pentravan (Semisolid) Formulation Using Human Skin and a Transdermal Diffusion Test Model. *Materials (Basel)*. 2021 Nov 11;14(22):6808. doi: 10.3390/ma14226808.
- Schaefer, H., et al. (2017). "Clinical evaluation of skin compatibility of topical formulations." *Journal of Dermatological Treatment*.
- Souza, Maria Rosemary Batista, Palloma Mayra Gomes Seródio, and Tiberio Cesar Lima Vasconcelos. 2020. "Emulsões A/Si Característica e Estabilidade: Revisão de Literatura." *Brazilian Journal of Development* 6(6): 35403–12.
- Watson CP. The treatment of neuropathic pain: antidepressants and opioids. *Clin J Pain*. 2000;16:S49–S55.) (Watson CP, Vernich L, Chipman M, et al. Nortriptyline versus amitriptyline in postherpetic neuralgia: a randomized trial. *Neurology*.1998;51:1166–1171.