DESENVOLVIMENTO E AVALIAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS CONTENDO SILÍCIO ORGÂNICO NA PRODUÇÃO DE COLÁGENO TIPO I

Luana Serbai (BIC/Fundação Araucária), Josiane de Fátima Padilha de Paula (Orientador), e-mail: jopadilha@terra.com.br, Rosana Leticia da Rosa (Coautora), e-mail: rosanaleticia@hotmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Ciências Farmacêuticas.

Área: 1.06.00.00-0 Química
Subárea: 1.06.01.00-7 Química Orgânica.

Palavras-chave: Silicium P®, fibroblastos, cosméticos**.**

Resumo

Introdução: O envelhecimento provoca redução no número de fibroblastos, do colágeno tipo I e de fibras elásticas. Estudos demonstram que o silício orgânico aumenta a produção de colágeno tipo I. As nanopartículas poliméricas são sistemas que permitem a liberação controlada e uma maior capacidade de penetração dos ativos nas camadas da pele, com isso, aumenta a eficácia do produto. Objetivo: Desenvolver nanopartículas de Silicum P® e avaliar seu efeito sobre células fibroblásticas 3T3. Metodologia: A suspensão de nanopartículas foi obtida pela técnica de emulsificação-evaporação do solvente, foi realizada a caracterização físico-química e avaliado o efeito das nanopartículas sobre células 3T3. Resultados: Foram obtidas nanopartículas com diâmetro médio de 404 nm e PZ de -34,9 mV. As nanopartículas apresentaram um formato esférico e uma superfície lisa. O estudo nas células fibroblásticas demonstrou que as maiores concentrações da suspenção de nanopartículas resultam na redução da viabilidade celular. Conclusão: A utilização das nanopartículas de Silicium P® seria adequada na concentração igual ou inferior a 125 µg/mL.

Introdução

Como todos os órgãos a pele sofre alterações fisiológicas e morfológicas com o tempo (FISHER et al., 2002; MAKRANTONAKI e ZOUBOULIS, 2008). Com o envelhecimento, ocorre a diminuição da capacidade proliferativa das células, a redução na síntese da matriz dérmica e o aumento da expressão de enzimas que degradam o colágeno presente na matriz (JENKINS, 2002).
Os humanos estão expostos a numerosas fontes de silício (JUGDAOHSINGH, 2007). Na pele, sugere-se que o silício é fundamental para a síntese de colágeno e ativação de enzimas hidroxilantes, melhorando a sua elasticidade e força (ARAUJO e CAMPOS, 2016). O Monometilsilanotriol (MMTS) é um análogo mais biodisponível do ácido ortosilícico, uma forma natural de silício encontrado na pele em pequenas quantidades (PROUHEZE et al., 2017).
A nanotecnologia engloba materiais dentro da escala nanométrica, ou seja, materiais com tamanho entre 0,1 e 100 nanômetros. Em geral, são caracterizadas por possuir uma alta superfície de contato e um grande número de partículas por unidade de peso. Com isso, as propriedades do material bruto se modificam. As nanopartículas contendo substâncias ativas são utilizadas com a intenção de melhorar sua

funcionalidade e a disponibilidade ou estabilidade quando comparadas com o mesmo material na forma molecular (DAUDT et al; 2013).
Diante do que foi exposto, esse trabalho teve como objetivo desenvolver e caracterizar nanopartículas de Silicium P® (MMTS) e investigar seu efeito sobre fibroblastos 3T3.

Materiais e Métodos

Obtenção das nanopartículas de Silicium P®

A suspensão de nanopartículas foi preparada pela técnica de emulsificação-evaporação do solvente (SOUTO et al., 2012). A composição da formulação está descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Composição da formulação de nanopartículas de Silicium P®.

Solução de Silicium P®	Solução de PCL (3%)	Solução de PVAl (2,5%)
0,1 g de Si + 0,9 g de H2O	0,6 g de PCL	2,5 g de PVAl
0,001 g de Tween 80	20 mL de clorofórmio	100 mL de H2O

A suspensão de nanopartículas foi obtida utilizando um homogeneizador (Ultra-Turrax) a uma agitação de 22000 rpm. Primeiramente, a solução de Silicium P foi emulsionada na solução de PCL por 60 segundos. Em seguida, verteu-se a emulsão formada (fase orgânica) sobre a solução de PVAl (fase aquosa) e manteve-se a agitação por 3 minutos. A emulsão formada foi mantida em agitação magnética, à temperatura ambiente por 4h, para a evaporação do solvente orgânico.

Após a evaporação do solvente, utilizando uma centrífuga refrigerada (10000 rpm/10 min), as nanopartículas foram lavadas 3 vezes com água ultrapurificada, para a eliminação do excesso de PVAl. As nanopartículas foram ressuspendidas e armazenadas sob refrigeração.

Caracterização físico-química das suspensões de nanopartícula

Determinação do diâmetro médio das nanopartículas
A determinação do diâmetro médio foi realizada pelo *software* Image Tool 3.0. Foi feita a determinação do diâmetro de 200 nanopartículas, a partir de uma micrografia obtida pela microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEG).

Determinação do potencial Zeta
O potencial zeta (PZ) foi determinado utilizando o espectrômetro de auto-correlação a laser (MALVERN INSTRUMENTS, modelo Zetasizer Nanoseries ZS90). Para a análise, a amostra foi diluída em água ultrapurificada para uma concentração final de 0,02 mg/mL.

Análise por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEG)
A avaliação morfológica e de superfície das nanopartículas foi realizada em microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo MIRA3, (Tescan). Foi adicionado 10 µL das suspensões de nanopartículas nos suportes de amostras e

secas em estufa a 37°C por 24 h. As imagens foram obtidas após analise das amostras e os registros ocorreram por meio de *software* específico.

Avaliação da ação das nanopartículas em células fibloblásticas de camundongos (3T3)
Neste estudo foi utilizada a linhagem celular de fibroblastos de camundongos 3T3. A viabilidade celular foi determinada utilizando o método da redução do MTT. O método analisa a atividade mitocondrial, pela redução do sal solúvel brometo 3-(4,5)dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2il-tetrazólico.

Resultados e Discussão

Obtenção das nanopartículas de Silicium P®
As suspensões de nanopartículas apresentaram um aspecto macroscópico branco opalescente, podendo-se observar o reflexo azulado característico das partículas coloidais em suspensão (SCHAFFAZICK et al., 2002).

Caracterização físico-química das suspensões de nanopartículas
O diâmetro médio obtido foi de 404 nm, com um desvio padrão de ± 251. O alto valor do desvio padrão indica uma heterogeneidade no tamanho das nanopartículas.
As partículas podem ser consideradas estáveis quando o valor absoluto de potencial zeta é próximo de 30 mV, sendo que o fenômeno de floculação ocorre mais facilmente com valores próximos a 0 e 5 mV (NEVES et al., 2013). O valor obtido para a formulação de nanopartículas de Silicium P® foi de -34,9 mV indicando que as nanopartículas são estáveis.
As nanopartículas apresentaram um formato esférico e uma superfície lisa.

Avaliação da ação das nanopartículas em células fibloblásticas de camundongos (3T3)
As nanopartículas de Silicium P® (Figura 1) foram testadas nas concentrações de 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 75 µg/mL, 50 µg/mL e 25 µg/mL. Com os dados obtidos, foi possível verificar que nas concentrações de 500 µg/mL e 250 µg/mL as nanopartículas de Silicium P provocaram uma maior redução da viabilidade celular. Sendo que, para ambas as concentrações foi observada uma viabilidade celular em torno de 60%, quando comparado com o controle negativo.

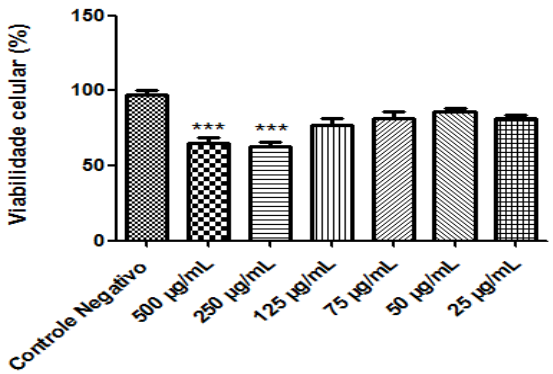


Figura 1: Efeito das amostras de nanopartículas de Silicium P® sobre a viabilidade de fibroblastos 3T3, após 24 horas, pelo ensaio de redução do MTT. As concentrações testadas estão em mg/mL. Os resultados estão expressos como média ± EPM (erro padrão da média) (n=8). O teste estatístico utilizado foi Anova. ***<0,0001 quando comparado com o grupo controle.

Conclusões

O método de dupla emulsificação com evaporação do solvente foi adequado para a obtenção de nanopartículas de Silicium P®. A avaliação das nanopartículas em células fibroblásticas 3T3, demostrou um efeito citotóxico nas maiores concentrações das nanopartículas, sendo adequado seu uso em um concentração igual ou inferior a 125 µg/mL.

Agradecimentos

À Fundação Araúcaria pelo apoio financeiro.
Ao Complexo de Laboratórios Multiusuários pelas análises de caracterização físico-química.

Referências

ARAUJO, A. L.; CAMPOS, M. B. G. M. P.; ADDOR, F.; Use of silicon for skin and hair care: an approach of chemical forms available and efficacy. **An Bras Dermatol**. v. 91, n. 3, p.331-5, 2016.
DAUDT, M. R.; EMANUELLI, J.; KULKAMP-GUERREIRO, C. I.; et al. A Nanotecnologia como Estratégia para o Desenvolvimento de Cosméticos. **Ciência Cultura**, v .65, 2013**.**
FISHER, G. J., Kang, S., Varani, J., et al. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. **Archives of dermatology**, v. 138, n. 11, p. 1462-1470, 2002**.**
JENKINS, G. Molecular mechanisms of skin ageing. **Mechanisms of ageing and development.** v. 123, n. 7, p. 801-10, 2002.
JUGDAOHSINGH, R. Silicon and bone health. **The Journal of Nutrition, Health & Aging**, v. 11, n. 2, p. 99-110, 2007.
MAKRANTONAKI, E.; ZOUBOULIS, C. C. Skin alterations and diseases in advanced age. **Drug Discovery Today: Disease Mechanisms**. v. 5, n.2, 2 2008.
NEVES, A. R. et al. Novel resveratrol nanodelivery systems based on lipid nanoparticles to enhance its oral bioavailability. Int **Journal of Nanomedicine**, v. 8, p. 177-187, 2013.
PROUHEZE, P.; GUGLIELMI, J.; FRECHET, M.; et al. Regeneration of Aged Human Dermis by Cell-to-Matrix interaction Improvement. Poster session presented at: Cosmetic Science: Beauty, Convergence and Creativity. 24th **Conference of the International Federation of Societies of Cosmetic Chemists**; 2017, Oct 24-25, Seoul, KR.
SCHAFFAZICK, S. R.; POHLMANN, R. A.; FREITAS, L. L.; et al. Caracterização e Estudo de Estabilidade de Suspensões de Nanocápsulas e de Nanoesferas Poliméricas Contendo Diclofenaco. **Acta Farm. Bonaerense**, v. 21, n. 2, p. 99-106, 2002.
SOUTO, B. E.; SEVERINO, P.; SANTANA, H. M. Preparação de Nanopartículas Poliméricas a partir de Polímeros Pré-formados – Parte II. **Polímeros**, vol. 22, n. 1, p. 101-106, 2012.