



Preparo de sistema lipossomal/multivitamínico: teste ex vivo em pele de porco

Preparation of liposomal/multivitamin system: ex vivo test on pig skin

Emanuelle Bernardes Lopes¹, Sidnei Lopes Claro Junior², Luis Fernando Cabeça³.

RESUMO

Vitaminas C, D e E desempenham um papel fundamental na saúde da pele, contribuindo para sua beleza e integridade, ajudando no envelhecimento saudável da pele. Logo, esses ingredientes ativos, têm baixa solubilidade em água, não penetrando absolutamente na camada externa da pele, assim, o estudo e uso dos lipossomas, vesículas compostas de fosfolípidos, semelhantes às moléculas que compõem a membrana celular, desempenham um papel importante na penetração das vitaminas na pele humana, retardando o envelhecimento. Este trabalho é focado em fazer testes laboratoriais em pele de orelha suína, com vitaminas encapsuladas em lipossomas, para entender o tempo de penetração e assim saber se é uma boa opção na indústria dermatológica, lipossoma com sistema multivitamínico.

PALAVRAS-CHAVE: lipossomas; vitaminas; penetração.

ABSTRACT

Vitamins C, D and E play a fundamental role in skin health, contributing to its beauty and integrity, helping with healthy skin aging. Therefore, these active ingredients have low water solubility, absolutely not penetrating the outer layer of the skin, thus, the study and use of liposomes, vesicles composed of phospholipids, similar to the molecules that make up the cell membrane, play an important role in penetration. Of vitamins in human skin, delaying aging. This work is focused on carrying out laboratory tests on pig ear skin, with vitamins encapsulated in liposomes, to understand the penetration time and thus know if liposomes with a multivitamin system are a good option in the dermatological industry.

KEYWORDS: liposomes; vitamins; penetration.

INTRODUÇÃO

O envelhecimento da pele é um processo natural que ocorre ao longo dos anos e é influenciado por vários fatores, como fatores genéticos, ambientais e estilo de vida. As alterações genéticas determinam em grande parte como a pele envelhecerá ao longo da vida. No entanto, outros fatores também desempenham um papel significativo, como a exposição ao sol, estresse e tabagismo.

A genética pode afetar a maneira como o colágeno, a elastina e outras proteínas estruturais da pele são produzidas e essas são essenciais para manter a elasticidade, firmeza e hidratação da pele. Com o envelhecimento, a produção dessas proteínas, diminuem e resulta em rugas, flacidez e ressecamento.

Nessa parte que as vitaminas entram e desempenham um papel importante na saúde da pele, elas exercem funções essenciais para o envelhecimento e manutenção, são

¹ Voluntária PIBICT/UTFPR. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: emanuelle.lopes@alunos.utfpr.edu.br.

² Voluntário PIBICT/UTFPR. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: sidnejunior.2022@alunos.utfpr.edu.br. ID Lattes: 9725212563703549.

³ Docente do Departamento de Química. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil. E-mail: luiscabeça@utfpr.edu.br. ID Lattes: 2028423293665464.



exemplos disso as vitaminas C, D e E. Vitamina C que estimula a produção de colágeno e protege contra radicais livres. Vitamina D que é essencial para a saúde geral e vitamina E que é antioxidante e suaviza a pele.

Essas vitaminas devem possuir propriedades que ajudem a atravessar a barreira epidérmica, composta por estrato córneo e epiderme, para que atinja o seu local de ação e assim exerça sua função na pele.

Uma maneira de promover a penetração percutânea é utilizar promotores de permeação, e um dos promotores que vem sendo muito utilizado e estudado são os lipossomas, vesículas microscópicas compostas principalmente de fosfolípidos, que são moléculas semelhantes às que compõem as membranas celulares, eles podem melhorar a penetração dos ingredientes ativos nas camadas mais profundas da pele, onde podem exercer seus efeitos benéficos. As vitaminas, têm baixa solubilidade em água e, portanto, não penetram efetivamente na epiderme, que é composta principalmente por células lipídicas, logo, os lipossomas são compatíveis com a epiderme o que facilita a dissolução das vitaminas lipossomais e sua absorção pelas camadas mais profundas.

OBJETIVO

O objetivo da pesquisa é estudar a penetração percutânea da formulação lipossomal/vitaminas C, D e E em orelha de porco (ex vivo).

MATERIAIS E MÉTODOS

LIPOSSOMAS SPC COM VITAMINAS C, D e E

Os lipossomas foram preparados pelo método de hidratação do filme lipídico, contendo fosfatidilcolina de soja, colesterol (7:3), (3mM, sendo 2,1mM SPC + 0,9mM colesterol) e vitamina D3 (1mM) em clorofórmio e à mistura foi adicionado 2% em massa de Tween-80, a solução foi colocada no ultrassom por 10 minutos e depois foi evaporada para retirada do solvente, dando origem ao filme lipídico. O filme lipídico (SPC+colesterol+D3+T80) foi hidratado com 2mL de uma solução contendo 80% de tampão fosfato (pH 7,5) e 20% de etanol com vitamina E (1mM) e vitamina C (1mM), em seguida colocado por mais 10 minutos no ultrassom. Os lipossomas obtidos foram levados ao homogeneizador ultrassônico (QSonica, Q500), durante o processo de sonicação foi utilizado uma frequência de 20 kHz a 500W e com máxima amplitude (240µm). Foram realizados 10 ciclos de 1 minuto de agitação com 1 minuto de descanso sob banho de gelo. Neste processo foi obtida a amostra lipossoma vitaminas com tween-80 e etanol (LVTE).

TESTE EX VIVO EM PELE DE ORELHA SUÍNA

Preparamos lipossomas pele mesmo método de hidratação do filme lipídico, mas apenas com a vitamina D3, para fazer o teste de liberação e ver como seria o resultado, com o solvente extrator, para depois seguir em frente com as demais vitaminas adicionadas.



Os testes de liberação da formulação foram inicialmente realizados com o sistema de célula de difusão de Franz utilizando a pele da orelha de porco sem a cartilagem como barreira de difusão, mantendo a solução receptora (80% água + 20% etanol) em 37° C durante todo o processo e sob agitação magnética, 150 uL de duas soluções foram utilizadas, uma contendo o sistema lipossoma T-80 (2,1:0,7 mM de SPC/colesterol) com vitamina D3 (1 mM) e outra sendo apenas uma solução simples de vitamina D3 para que fosse possível realizar a comparação. Dois testes foram realizados, um com o tempo de 5 horas e outro com o tempo de 3 horas para observar o tempo de penetração na pele. Após esse tempo, as amostras de pele foram secadas ainda no equipamento para evitar que a soluções escorressem para a fase receptora, lavadas suavemente com água destilada para que fosse removido o excesso de formulação e então foi realizada a técnica de tape stripping, adicionando as fitas obtidas em metanol (solvente extrator), após esse procedimento foi delimitada a área das amostras de pele que permaneceu em contato com a solução lipossomal, com aproximadamente 1 cm de diâmetro, essa área circular então foi cortada em pequenos pedaços de 1 mm² e também foram adicionadas em metanol. As soluções então contendo as fitas e as amostras de pele cortadas foram levadas ao vórtex por 30 segundos, ao ultrassom por 15 minutos e por fim, sonicadas do mesmo modo realizado na formação dos lipossomas. Após isso, as soluções foram passadas em um filtro de 0,45µm e então levadas para a quantificação em CLAE.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O cálculo da eficiência de encapsulamento foi realizado análise de CLAE. O cromatograma das vitaminas D e E foram observados no comprimento de onda de 280nm, apresentando um pico com tempo de retenção de 4,5 minutos da vitamina D e de 6,65 minutos da vitamina E (Figura 1). O cromatograma para a vitamina C mostrou um pico com tempo de retenção de 0,81 minutos, em comprimento de onda 265 nm (Figura 2).

A curva de calibração da vitamina D forneceu uma equação da reta de $y = 0,6739 + 7,4937x$ e $R^2 = 0,99892$, com eficiência de encapsulação de 99,99%.

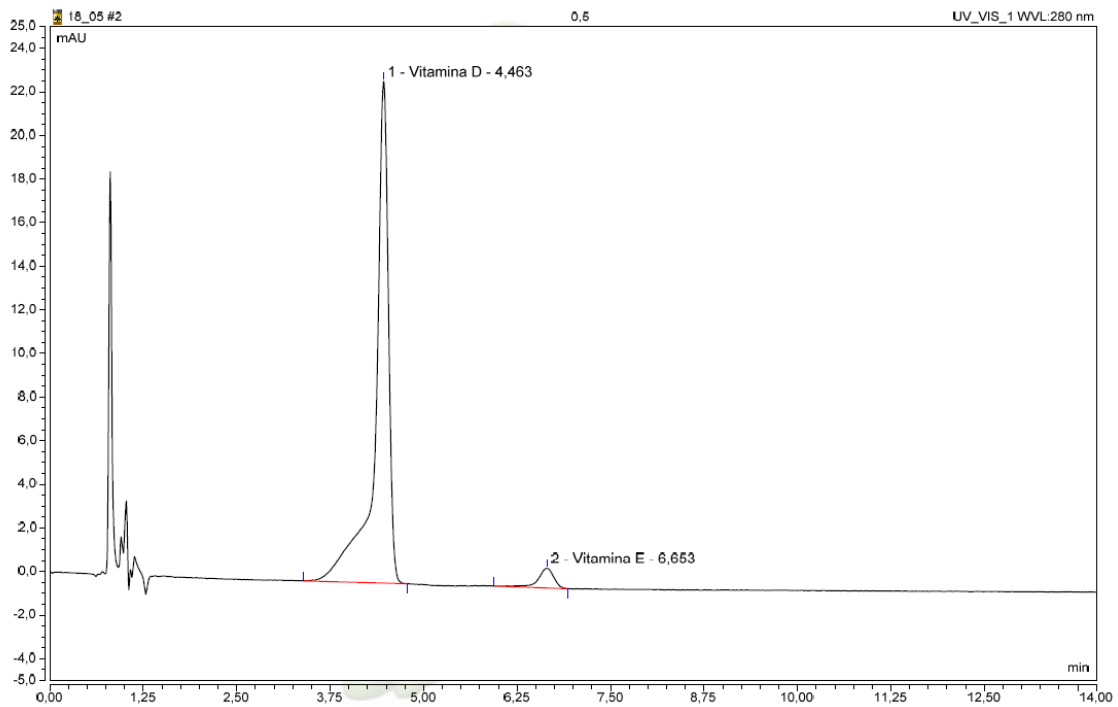
A curva de calibração da vitamina E forneceu a equação da reta $y = 0,0371 + 0,4114x$ e $R^2 = 0,99669$, com eficiência de encapsulamento de 99,99%.

Para a vitamina C temos uma equação da reta $y = - 0,04593 + 2,91059x$ e $R^2 = 0,99669$, com a EE% da vitamina C de 93%.

Depois do preparo dos lipossomas com as vitaminas e os resultados obtidos quanto a eficiência de encapsulamento, os dois testes de penetração em orelha suína que foram realizados em 3 e 5 horas apresentaram os seguintes resultados. O resultado do teste de duração de 3 horas não conseguiu identificar a presença da vitamina D na amostra da pele suína, tanto a vitamina livre como a vitamina D com o lipossoma. O resultado do teste de duração de 5 horas tivemos um valor de 0,1863mM para a vitamina D livre, porém, o valor da amostra de pele com lipossoma e vitamina D foi um valor de 0,0158mM (Figura 3). Na parte das amostras da fita, não houve nenhuma presença detectada de vitamina D pelo HPLC.

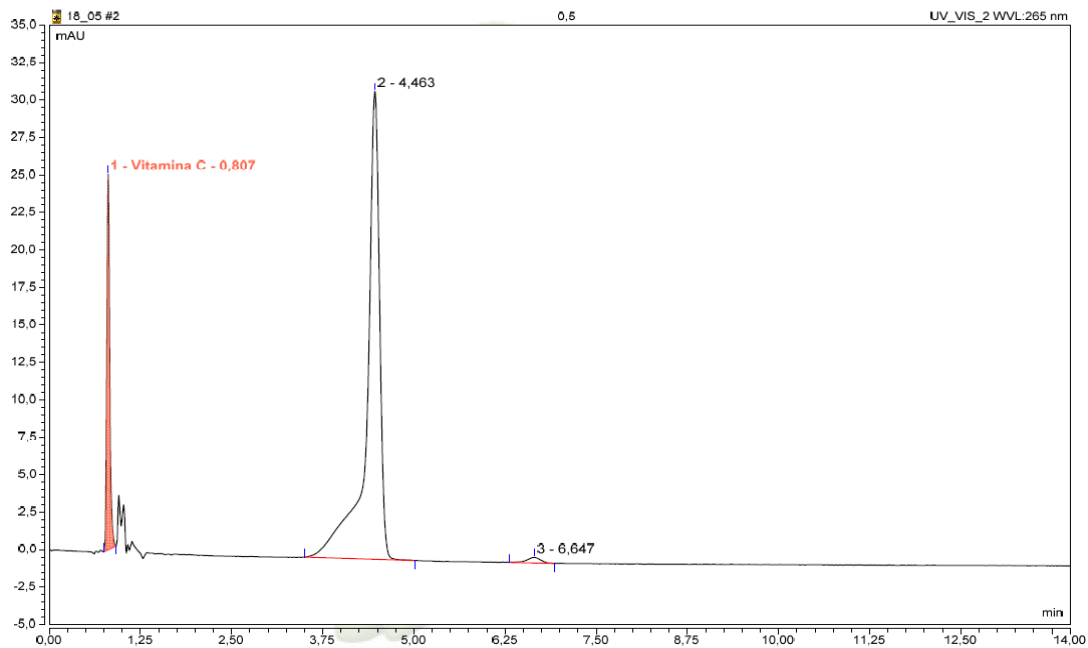


Figura 1 - Cromatograma da vitamina D e E, observado no comprimento de onda de 280 nm.



Fonte: HPLC UltiMate 3000 (Thermo Scientific), software Chromeleon, do Departamento de Química da UTFPR, campus Londrina

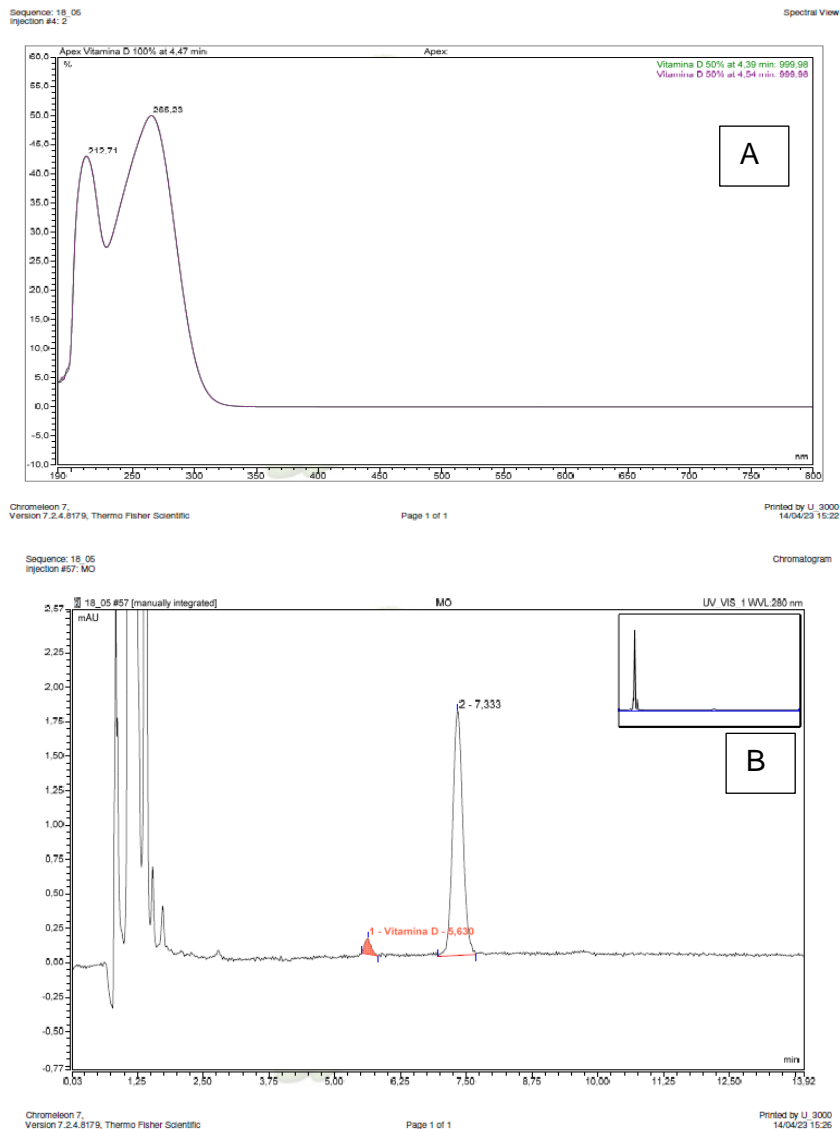
Figura 2 - Cromatograma da vitamina C, observado no comprimento de onda de 265 nm.



Fonte: HPLC UltiMate 3000 (Thermo Scientific), software Chromeleon, do Departamento de Química da UTFPR, campus Londrina



Figura 3 – A) Espectro padrão da vitamina D por HPLC. B) Espectro obtido da amostra de lipossoma-vitamina D pelo teste de 5 horas por HPLC



Fonte: HPLC UltiMate 3000 (Thermo Scientific), software Chromeleon, do Departamento de Química da UTFPR, campus Londrina

Utilizando a equação da reta referente a curva de calibração da vitamina D, temos que a porcentagem de penetração da vitamina D livre na pele foi de 18,63% e da vitamina D encapsulada em lipossomas foi de 15,8%.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no teste de 3 horas e no de 5 horas nos mostram que temos uma melhor penetração da vitamina D na pele com um maior tempo de descanso, já que



conseguimos um valor de vitamina D livre e sem presença nas amostras de fitas. Logo, percebemos uma maior absorção de vitamina D livre do que de vitamina D com lipossoma, nos levando a pensar que a solução extratora, o metanol, não foi o suficiente para degenerar os lipossomas e dissolver a vitamina D presente na pele.

Agradecimentos

Meus agradecimentos ao docente Prof. Dr. Luis Fernando Cabeça pela oportunidade e ensinamentos durante os estudos na iniciação científica, a Universidade Tecnológica Federal do Paraná do Campus Londrina, pelo apoio institucional que possibilitou as pesquisas através dos laboratórios, matéria prima e abertura do projeto e também ao Laboratório Multiusuário e o departamento de química, ambos do Campus Londrina da Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelas análises realizadas.

Conflito de interesse

“Não há conflito de interesse”.

REFERÊNCIAS

NOVICKI, Luiza Hauser. Desenvolvimento de sistema multivitamínico encapsulado em lipossomas para saúde da pele. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Universidade Tecnológica Federal do Paraná.