

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS CONTENDO ÁCIDO CAFEICO-FTALIMIDA E SUA AÇÃO NA MORFOLOGIA DE FIBROBLASTOS L-929 IRRADIADOS COM UVB

Rayane Camilly De Freitas (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Bruna Terra Alves da Silva, Sueli de Oliveira Silva Lautenschlager (Orientador). E-mail: lautenschlager@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/ Farmácia.

Palavras-chave: Fotoquimioproteção; antioxidantes; fibroblastos.

RESUMO

A radiação ultravioleta (UV) pode gerar estresse oxidativo na pele ao aumentar a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que ultrapassam a capacidade antioxidante natural. Nesse estudo avaliou-se o efeito fotoprotetor de nanopartículas lipídicas sólidas contendo ácido cafeico-ftalimida (CF-NLS) em fibroblastos L-929 submetidos a radiação UVB. Foram analisados o perfil de absorção e fotodegradação das nanopartículas, sua atividade antioxidante, além da avaliação morfológica dos fibroblastos L-929 após o tratamento com as CF-NLS.

INTRODUÇÃO

A radiação ultravioleta B (UVB) está diretamente relacionada ao fotoenvelhecimento cutâneo, podendo levar a queimaduras solares e lesões no DNA (GRUBER, et al., 2023). Estas lesões são decorrentes do aumento de EROs capazes de danificar proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (AVERILL-BATES, D., 2024). Visto isso, compostos como o ácido cafeico conhecido por sua ação antioxidante (YU, J. et al., 2024) e a fração fitalimida possui diversas propriedades farmacológicas apresentando potencial protetor (SANTOS, W. H. DOS *et al.*, 2021). Assim, esse estudo avaliou o efeito fotoquimioprotetor de CF-NLS em fibroblastos L-929 irradiados com UVB.

MATERIAIS E MÉTODOS

Determinação do perfil de absorção e avaliação da fotodegradação do CF-NLS.

As CF-NLS foram diluídas em DMSO na concentração final de 20 µg/ml e as medições feitas na faixa de 220 a 420 nm. Para fotodegradação, a substância foi avaliada nas mesmas condições, porém irradiada com UVB (600mJ/cm²), e as absorbâncias foram registradas em espectrofotômetro no intervalo de 220 a 420 nm.

Avaliação da atividade antioxidante utilizando FRAP e inibição do NO.

Foram testadas diferentes concentrações de amostras (10 µl) misturadas com 240 µl de solução FRAP. Essa mistura foi incubada durante 30 min e as absorbâncias medidas a 595 nm. A eficácia relativa foi obtida em TEAC- capacidade antioxidante equivalente ao Trolox. Para NO, as células L-929 foram tratadas com CF-NLS por 1 hora, lavadas e irradiadas com UVB (600mJ/cm²). Após 24 h as células foram marcadas com DAF-FM DA, incubadas por 30 min e lidas em citômetro de fluxo.

Avaliação da morfologia celular dos fibroblastos L-929

Para avaliar as alterações morfológicas celulares, fibroblastos L-929 cultivados em placas de 24 poços (2,5 × 10⁵ células/mL) foram tratados por 1 h com diferentes concentrações das CF-NLS, expostos a radiação UVB e incubados por 24 h. Em seguida, as células foram visualizadas usando um microscópio óptico (Olympus®, CKX31) e as imagens foram capturadas usando uma câmera Olympus® DP80.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1 mostra a absorção das CF-NLS em espectro ultravioleta. Os picos de absorção indicam os comprimentos de onda onde as nanopartículas absorvem mais luz. A formulação de CF-NLS 90:10 apresenta um pico de absorção bem definido ao longo do espectro, por volta de 370 nm. A formulação de CF-NLS 85:15 mostra um pico bem definido em torno de 395-400 nm. As diferentes posições dos picos sugerem que uma mudança na composição da nanopartícula influencia na sua absorção.

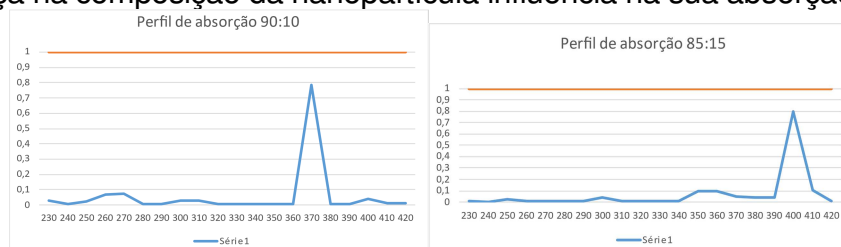


Figura 1. Determinação do perfil de absorção das CF-NLS 90:10 e CF-NLS 85:15.

A figura 2 mostra o perfil de fotodegradação do CF-NLS. A formulação CF-NLS 90:10 apresenta uma fotodegradação de aproximadamente 3.71%, sendo mais estável e resistente à degradação quando exposta à luz em comparação a formulação CF-NLS 85:15 que apresenta uma fotodegradação em torno de 14.8%, sugerindo que essa formulação é menos estável sob as mesmas condições de exposição.

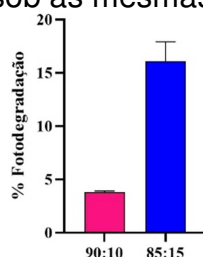


Figura 2. Avaliação do perfil de fotodegradação das CF-NLS nas formulações de 90:10 (rosa) e 85:15 (azul).

A figura 3 mostra a capacidade antioxidante das CF-NLS pelo ensaio FRAP. O controle negativo (CN) possui baixa atividade antioxidante. O controle positivo (QT) demonstra um pequeno aumento na atividade antioxidante em relação aos tratamentos. O tratamento com a formulação de nanopartícula 90:10 demonstra um aumento expressivo na atividade antioxidante. O tratamento com a formulação de 85:15 indica o maior potencial antioxidante entre os grupos testados.

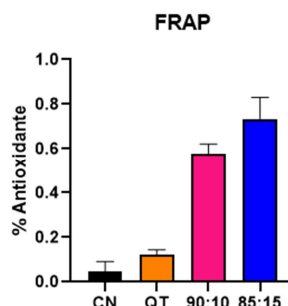


Figura 3. Avaliação do potencial antioxidante redutor férrico (FRAP) das CF-NLS. CN: controle negativo com células não tratadas e não irradiadas. QT: controle positivo com quercetina. 90:10: células tratadas com CF-NLS (1µg/mL) 85:15: células tratadas com CF-NLS (1µg/mL).

Foi feito também a avaliação das CF-NLS em inibir a produção de NO. O controle negativo demonstrou um baixo sinal de fluorescência, sendo assim pouco NO detectado. O controle positivo (QT) mostrou forte capacidade antioxidante, enquanto o UVB apresentou um aumento de NO após irradiação. As nanopartículas em ambas as formulações em baixa dose indicaram menor captura de NO, enquanto em doses maiores capturam mais NO, evidenciando uma melhor proteção.

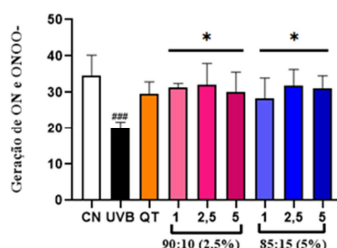


Figura 4. avaliação das CF-NLS em inibir a produção de NO. CN: controle negativo com células não tratadas e não irradiadas. UVB: células não tratadas e irradiadas com UVB. QT: controle positivo com quercetina. 90:10: células tratadas com CF-NLS (1, 2,5 e 5 µg/mL). 85:15: células tratadas com CF-NLS (1, 2,5 e 5 µg/mL)

A figura 5 demonstra a morfologia das células de fibroblastos L-929. Na primeira coluna o controle negativo apresenta células saudáveis, aderentes e com morfologia preservada. O grupo UVB as células estão arredondadas e soltas como efeitos da radiação. O controle positivo as células estão próximas ao controle saudável com menor arredondamento. A formulação de nanopartícula 90:10 na dose 1 tem-se a morfologia preservada com poucas alterações, dose 2,5 aparecem sinais de estresse, mas com menor confluência, na dose 5 existem mais células soltas e

arredondadas. Já a formulação de 85:15 na dose 1 as células estão próximas ao normal, dose 2,5 apresenta células aderentes e alongadas e dose 5 em comparação a outra formulação as células estão menos danificadas.

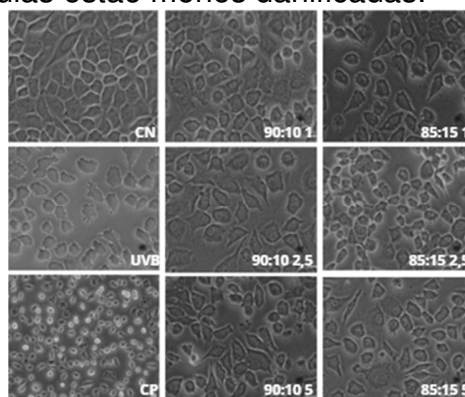


Figura 5. Avaliação da morfologia em células L-929 tratadas com CF-NLS e irradiadas com UVB. CN: controle negativo; células não tratadas e não irradiadas; UVB: células irradiadas com UVB (600 mJ/cm²); 90:10: células tratadas com CF-NLS (1, 2,5 e 5 µg/mL). 85:15: células tratadas com CF-NLS (1, 2,5 e 5 µg/mL); CP: células tratadas com quercetina (20 µM).

CONCLUSÕES

CF-NLS em ambas as formulações exibiu potencial fotoprotetor e antioxidante, garantiu estabilidade das nanopartículas, além de proteger contra a radiação UVB confirmado pela avaliação morfológica.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Universidade Estadual de Maringá.

REFERÊNCIAS

AVERILL-BATES, D. Reactive oxygen species and cell signaling. Review. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research**, v. 1871, n. 2, p. 119573, 1 fev. 2024. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2023.119573.

GRUBER CR, et al. Câncer de pele não melanoma: revisão integrativa. **BioSCIENCE**, 2023; 81(2): 16-16.

SANTOS, W. H. DOS *et al.* Development of a caffeic acid–phthalimide hybrid compound for NADPH oxidase inhibition. **RSC Advances**, v. 11, n. 29, p. 17880–17890, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D1RA01066B>.

YU, J. et al. Plant-derived caffeic acid and its derivatives: an overview of their NMR data and biosynthetic pathways. **Molecules**, Basel, v. 29, n. 7, p. 1625, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules29071625>.