

L I N H A

Drone

KGf-1



NOT TESTED
ON ANIMALS



NON TOXIC



NON GMO



FOR ALL
SKIN TYPES



SUSTAINABLE
DEVELOPMENT



Drone KGF-1

ATIVANDO OS SUPER PODERES DA PELE – CONEXÃO CELULAR

Garantindo renovação/regeneração celular e transformação da comunicação celular

[Glia Innovation](#) SKIN TECH

Dermatologicamente testado e hipoalergênico

Benefícios

É um ativo peptídico biomimético sintético derivado do fator de crescimento de queratinócitos (KGF-1) ou fator de crescimento de fibroblastos/fibroblástico 7 (FGF-7) (do inglês, keratinocyte growth factor, KGF ou fibroblast growth factor-7, FGF-7) inserido num sistema de delivery de alta performance que atua como regenerador pro-idade. KGF-1 é naturalmente produzido por fibroblastos na derme ou armazenado nos grânulos plaquetários, mas sua ação é exclusiva em queratinócitos da epiderme, onde estão expressos seus receptores específicos (ação "inside/out cells" entre camadas). Em sintonia com a conexão entre camadas, a equipe da Glia Innovation entrega o **DRONE® KGF-1** capaz de ativar o ciclo virtuoso reverso da sinalização parácrina entre queratinócitos e fibroblastos, ao estimular "out-side/inside cells", de fora para dentro. **DRONE® KGF-1** estimula os queratinócitos na epiderme que respondem produzindo e liberando TGF-β1 que, por sua vez, atuará na derme sobre os fibroblastos, induzindo a produção de mais KGF-1, mantendo uma sinalização estratégica para restaurar a capacidade dos fibroblastos envelhecidos de interagir com o seu meio, permitindo uma ação transversal na conexão cutânea, que se encontra fragilizada com o envelhecimento. Como resultados/benefícios temos uma transformadora remodelação celular com produção de matriz extracelular (principalmente colágeno), contribuindo para uniformização da pele, com redução de marcas, linhas de expressão e rugas, atenuando os defeitos de vascularização de maneira indireta como resultado do ciclo virtuoso de sinalização, garantindo vitalidade da pele. Com a sua ação global (atuações diretas e indiretas) e cíclica, **DRONE® KGF-1** favorece a rápida regeneração da pele, principalmente em peles maduras.



Atributos/Claims marcantes

Eficácia transformadora e cumulativa de longa duração, pro-idade ou anti-sinais ou anti-rugas e vitalidade

INCI DRONE® KGF-1

Sh-Oligopeptide-5

Aplicações

Produtos faciais pro-idade, anti-sinais, renovador celular, incluindo produtos para uso pós peeling e pós laser, e para tratamento de cicatrizes e marcas da acne. Formulações: sérums, gel creme, cremes, pomadas e loções.



Recomendação de uso para formuladores

DRONE® KGF-1 deve ser usado a uma temperatura de 40°C ou inferior.



Informações Regulatórias

INCI	CAS
PHOSPHATE BUFFERED SALINE	-
POLOXAMER 407	9003-11-6
GLYCERIN	56-81-5
SH-OLIGOPEPTIDE-5	-
CAPRYLYL GLYCOL	1117-86-8
PHENOXYETHANOL	122-99-6

Dose recomendada

1% - 3%

Faixa de pH: 6,0 - 8,0

Informações Físico-químicas

Aspecto	LÍQUIDO
Cor	INCOLOR
Odor	CARACTERÍSTICO
pH (CONC.)	6,0 - 8,0
Densidade	0,6 - 1,4
Solubilidade	ÁGUA



Não aquecer acima de 40°



Incompatibilidade
Solventes



Compatibilidade
Bases aniônicas e não iônicas

Código interno de identificação do produto: **GI_3675**



Em **PRODUTOS** de baixa viscosidade a presença de ácido glicirrízico e sais, tais como sulfato de zinco, podem causar a precipitação das partículas por aglomeração.



Coordenadas para a missão **Drone® KGF-1**

A tecnologia conceito DRONE® da Glia Innovation entrega um sistema avançado de delivery de ativos baseado em “smarts” lipossomas ou nano-esferas formadas por um copolímero biocompatível, termoestável e autoajustável, que permite que os ativos atinjam células específicas da pele. Com sequências específicas fixadas em sua superfície, estas nano-estruturas adquirem ação bio-guiada, atingindo assim alvos celulares estratégicos como queratinócitos, fibroblastos, melanócitos e adipócitos, e também organelas específicas, garantindo uma liberação assertiva do ativo no local onde se mais precisa (Figura 1). Com os avanços de pesquisas científicas na área do envelhecimento, pode-se dar as coordenadas certas ao sistema DRONE® a fim de reparar traços negativos detectados na conexão celular intercamadas cutâneas e assim controlar a velocidade do envelhecimento da pele. Estas descobertas deram origem ao desenho do **DRONE® K GF-1**, que ativa uma proteção celular intercamadas por preservar a longevidade de cada tipo celular; aumentando e transformando a interação epiderme-derme que diminui com a idade, bem como reestruturando e regenerando a matriz extracelular para um efeito uniforme corretivo pro-idade e anti-sinais. É importante destacar, que no caso do **DRONE® KGF-1** a mesma sequência de direcionamento também atua como um ingrediente ativo. Desta forma, este sistema de entrega de alta performance, visa especificamente alvos celulares, funcionando como um produto multifuncional, proporcionando alta eficácia de forma sustentada, segura e para máxima percepção do usuário.

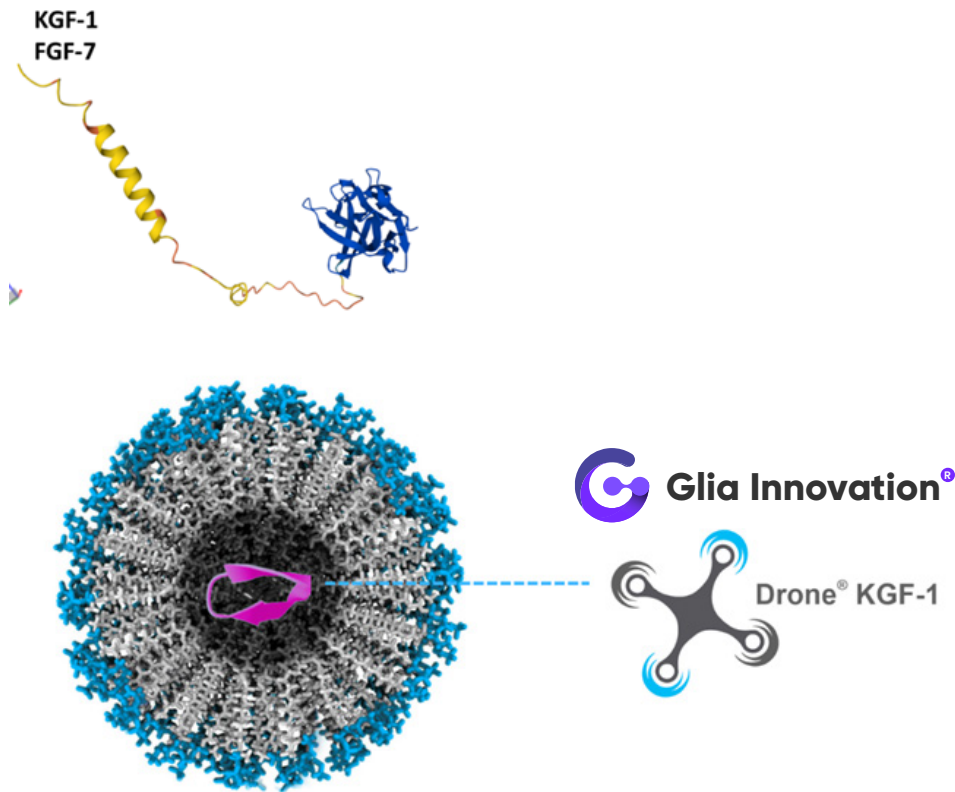


Figura 1: DRONE® KGF-1 sistema de nano-esferas (sistema nanopolimérico bifásico) bio-guiadas, contendo KGF-1 (INCI sh-Oligopeptide-5), para uma ação multifuncional multicamadas.

Drone® KGF-1 ativa ciclo virtuoso - intenso diálogo entre as camadas da pele

Se tem duas coisas que não tem muita cerimônia para ir embora são o viço e o colágeno da pele. De repente, olha-se no espelho e algo se perdeu: o ar de juventude. Acontece com todos, e se não podemos apagar por completo os sinais do tempo, por outro lado, podemos fornecer mais vitalidade, mais viço e mais colágeno. Neste cenário, de perdas e ganhos, faz-se necessário compreender o processo de renovação celular e reparo tecidual no contexto do envelhecimento. “Reparação tecidual” ou “renovação celular” são termos que se referem aos processos dinâmicos e simultâneos que normalmente ocorrem no corpo como uma resposta fisiológica ao dano tecidual (neste caso o envelhecimento), com o objetivo de restaurar a função e a arquitetura normais da área danificada. Esses processos consistem em um conjunto complexo de eventos celulares/moleculares



que, independentemente do tipo de dano (agudo: ferida/acne/procedimento ou crônico: envelhecimento) e da extensão da perda tecidual, são divididos em três estágios sobrepostos: i) inflamatório, ii) proliferativo e iii) remodelador [1-3].

A primeira fase ocorre logo após o dano tecidual “agudo” (procedimento estético mais intenso) como reação à lesão dos vasos sanguíneos; inicia-se com vasoconstrição (nos microvasos da derme), que dura alguns segundos, seguida de ação plaquetária [4]. À medida que as plaquetas formam um “tampão” para fechar os vasos temporariamente, há a formação de uma matriz de fibrina insolúvel para preencher a lesão e se formar um molde temporário para a infiltração de outros tipos celulares, como neutrófilos, macrófagos, células endoteliais e fibroblastos atraídos para a área da lesão por citocinas inflamatórias liberadas de plaquetas ativadas, como interleucina-1 β (IL-1 β), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e interferon- γ (IFN- γ)² [1-4]. As células inflamatórias desempenham um papel crucial na prevenção de infecções e facilitam a limpeza de detritos celulares e tecidos danificados. Vale destacar que neste contexto a inflamação é benéfica e necessária, é a maneira que nosso corpo luta contra ataques e conserta os danos causados a ele, com o único objetivo de manter a “maquinaria” tecidual funcionando. Por exemplo, em um procedimento estético há um estresse provocado na epiderme e derme, que exige o aumento do fluxo sanguíneo na micro vasculatura local, que fica “inflamada”, e se tudo correr de acordo com o plano do nosso organismo, logo em seguida vem a restauração da ordem, a renovação celular, e que pode ser intensificada com ativos externos. Mudando o cenário, saindo de um microambiente inflamatório agudo para um microambiente crônico, relacionado ao processo de envelhecimento, pode-se destacar o processo “inflammaging”, onde aparentemente não há necessidade da presença de mediadores inflamatórios, mas que por uma bio característica de decaimento nas respostas celulares e moleculares, decorrente do tão esperado envelhecimento, alguns agentes que atuam para restauração, podem



causar um descontrole de respostas levando a perda de interpretação de sinais pelas células. Neste quadro de envelhecimento “inflammaging” a perda de conectividade adequada entre as camadas da pele é acentuada, com consequente decaimento na síntese da matriz extracelular, somados a perda de expressão de receptores de fatores de crescimento na superfície celular e até uma redução de produção destes mesmos fatores, como fator de crescimento endotelial vascular (do inglês vascular endothelial growth factor (VEGF)), fator de crescimento fibroblástico (do inglês fibroblast growth factor (FGF), família do KGF-1 e KGF-2) e fator de crescimento derivado de plaquetas (do inglês platelet-derived growth factor (PDGF)), fator de crescimento insulínico (do inglês insulin-like growth factor (IGF-1)), fator de crescimento epidérmico (do inglês epidermal growth factor (EGF)), entre outros [1,4].

Em condições normais, esses fatores de crescimento são liberados por plaquetas ativadas, bem como por outros tipos de células da pele como fibroblastos, queratinócitos, células endoteliais, macrófagos; uma vez estimuladas, essas células sintetizam mais fatores de crescimentos, e criam uma comunicação e um ciclo virtuoso de conexão, modulando a manutenção do tecido cutâneo bem como mantendo os processos envolvidos no “reparo tecidual” e/ou “renovação celular” ativos e sincronizados, como é o caso do KGF-1, que participa através de sinalização parácrina (sinalização disparada entre células vizinhas, em distancias curtas) de maneira direta e indireta nos seguintes processos:

i) Diretamente: produzido pelos fibroblastos na derme, KGF-1 atua exclusiva e especificamente em queratinócitos, ativando a restauração e renovação celular da epiderme, modulando a proliferação (via ERK MAPK), migração (via transição epitélio mesênquima, com a indução de produção de N-caderina) e diferenciação de queratinócitos (síntese de E-caderina e citoqueratina (keratin 5)) [5];



- ii) Através do ciclo virtuoso, KGF-1 induz diretamente a produção de TGF- β 1 pelos queratinócitos que vão atuar em fibroblastos, levando a restauração da derme necessária para sanar o dano, ativando desde a proliferação até a migração e a síntese de colágeno (fortalecendo a matriz extracelular) [6];
- iii) De maneira indireta, KGF-1 estimula o processo de angiogênese por gerar estímulos no ciclo virtuoso que leva ao recrutamento de células endoteliais na derme com consequente aumento da produção de VEGF [1,6].

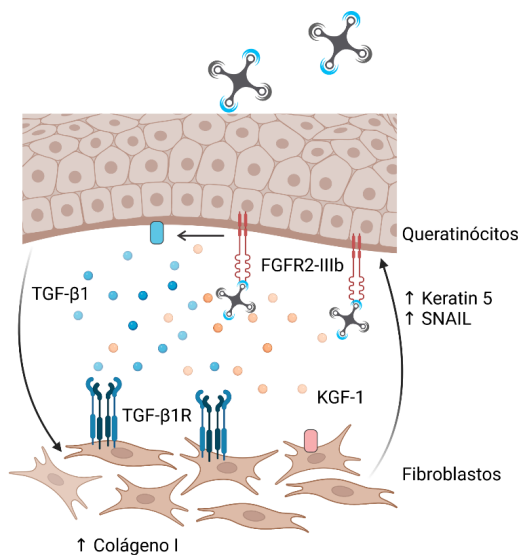
Diante dos efeitos-chaves do KGF-1 no contexto natural do reparo tecidual, a equipe da Glia Innovation conseguiu alinhar o biomimetismo de sua plataforma sintética BIOTECH-EDUCATED PLATELETS especializada no conteúdo plaquetário, com o design in silico para otimizar uma sequência derivada do fator de crescimento KGF-1, bem como definir um sistema de delivery de alta performance bio-guiado, criando o **DRONE® KGF-1** capaz de detectar e reparar os danos específicos da pele no contexto do envelhecimento, atuando nas áreas do rosto em que se faz mais necessário, intensificando a comunicação entre as camadas da pele [6]. Como resultados o **DRONE® KGF-1** proporciona a retomada da vitalidade cutânea, suavizando linhas de expressão profundas, induzindo a produção intensa de colágeno na matriz extracelular, sendo eficaz em transformar danos em firmeza e uniformidade, em qualquer fase da vida.

Mecanismo de ação Drone KGF-1 - Ativa ciclo virtuoso multicamadas com dupla sinalização parácrina

O processo de reparo tecidual cutâneo, requer uma ativa conexão e comunicação entre os tipos celulares que compõem as camadas da pele, sendo os protagonistas, mas não únicos, os queratinócitos na epiderme e fibroblastos na derme. É sabido que processos complexos requerem soluções eficazes e multifuncionais, e os



fatores de crescimento apresentam a efetividade multifuncional que requerem os processos de reparo tecidual e renovação celular. Esses fatores atuam de maneira conjunta e estratégica, e induzem efeitos de alto valor biológico, como o fator KGF-1 que atua de maneira interconectada, sendo produzido e liberado por fibroblastos na derme, atuando exclusivamente em queratinócitos na epiderme, em seus receptores específicos do tipo tirosina quinase, FGFR2-IIIb, estimulando a proliferação, migração e diferenciação deste tipo celular. Mas suas ações não se restringem aos seus efeitos diretos, como já mencionado, um importante e marcante efeito duplo direto/indireto, é a sua capacidade de induzir a secreção ativa de TGF- β 1 pelos queratinócitos, para a sua atuação em fibroblastos que ativando uma cascata de sinalização que leva ao aumento da expressão de Colágeno-I por fibroblastos, promovendo o fortalecimento e transformação da matriz extracelular (Figura 2).



Drone[®] KGF-1 se liga aos seus receptores (FGFR-IIIb) em queratinócitos da epiderme, estimulando a secreção ativa de TGF- β 1 para atuar em fibroblastos da derme, que por sua vez ativa uma cascata de sinalização dependente de TGF- β 1, levando ao aumento da expressão/produção/síntese de colágeno I, promovendo uma benéfica movimentação/ajuste de fibroblastos no processo de cicatrização de feridas.

Drone[®] KGF-1 **ativa um processo duplo de sinalização parácrina, muito além de uma ação individual e isolada, partindo da epiderme e amplificada na derme.**

Figura 2: DRONE[®] KGF-1 – interação com seu receptor em queratinócitos na epiderme, ativando os processos naturais de manutenção da maquinaria celular, bem como ativando o reparo tecidual quando necessário. De maneira indireta, induz a ativação de fibroblastos na derme, via TGF- β 1 que induz a produção de colágeno, fortalecendo a matriz extracelular [6]. Figura "Created with BioRender.com".



SISTEMA DRONE KGF-1 é Seguro e Biocompatível

Ensaio de viabilidade celular pela Análise da Redução do MTT, pelo método vermelho neutro e análise morfológica

A equipe da Glia Innovation assume o compromisso de estabelecer segurança, biocompatibilidade e eficácia como os pilares de seus lançamentos. O **DRONE® KGF-1** foi submetido a testes *in vitro* de segurança em cultivo de células em sistema 2D, como os tradicionais testes de i) análise da redução do MTT, por detecção dos sais de formazan, teste amplamente utilizado nas áreas de biologia celular e mercado cosmético; ii) o outro ensaio é baseado na captação de vermelho neutro que fornece uma estimativa quantitativa do número de células viáveis em uma cultura celular. É um dos testes de citotoxicidade mais utilizados com muitas aplicações biomédicas e ambientais. Baseia-se na capacidade das células viáveis de incorporar e ligar o corante supravital vermelho neutro em lisossomos [7]. É importante mencionar que em paralelo o acompanhamento da morfologia das células por microscopia óptica é uma garantia visual a mais. Tais testes são indicados no Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos da ANVISA, e são executados em todas as validações de biocompatibilidade da Glia Innovation.

Para os dois ensaios de avaliação de segurança e citotoxicidade *in vitro* do **DRONE® KGF-1**, as células HaCat e HFF-1 ($\approx 4 \times 10^4$ células/poço) foram cultivadas em placas de 96 poços, e após 24h, as diferentes linhagens celulares foram tratadas com o **DRONE® KGF-1** (1%), e incubadas a 37° C, 5% de CO₂ por 24 e 48h. Subsequentemente, a capacidade de redução do MTT e a incorporação do corante vermelho neutro por queratinócitos e fibroblastos de pele humana foram analisadas por método colorimétrico. Nos gráficos da Figura 3, pode-se observar a segurança do **DRONE® KGF-1** frente a atividade metabólica e a viabilidade das células cutâneas. Em todas



as linhagens celulares testadas **DRONE® KGF-1** apresentou atividade metabólica ativa, sem comprometimento da viabilidade celular, se mostrando biocompatível.

DRONE® KGF-1 Mantém o Metabolismo Celular das Células da Pele Ativo e Regulado

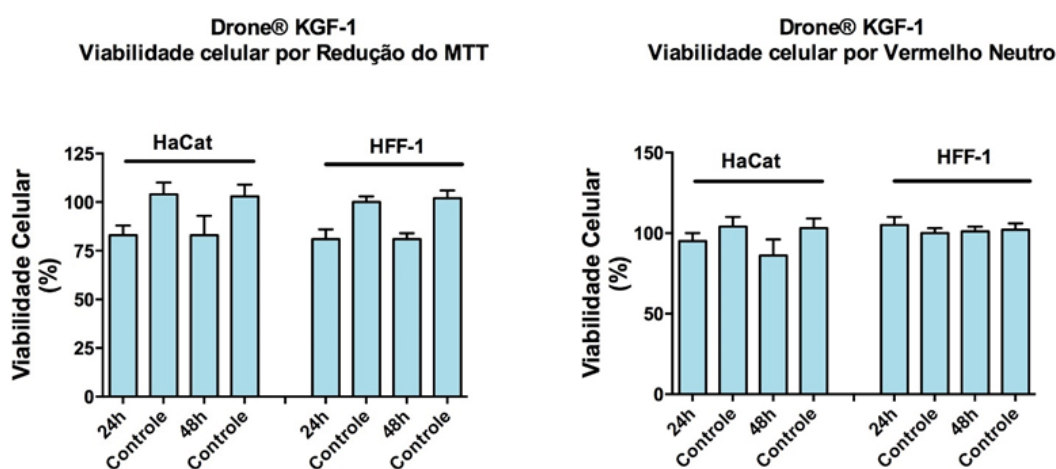


Figura 3: DRONE® KGF-1 - Análise da Viabilidade Celular em queratinócitos (HaCat) e fibroblastos (HFF-1) de pele humana por redução do MTT e incorporação do corante vermelho neutro em lisossomos. O tratamento com **DRONE® KGF-1** (1%) foi realizado separadamente e isoladamente de acordo com as condições de cada tipo celular. As análises foram monitoradas por 24h e 48h, onde o **DRONE® KGF-1** se mostrou seguro e biocompatível. Para o teste de redução do MTT é considerado toxicidade valores abaixo de 70% de viabilidade celular. Experimentos realizados em triplicata. O teste estatístico utilizado t-test (* $\leq 0,001$, **DRONE® KGF-1** 24h e 48h versus controle) GraphPad PRISM5.0 (La Jolla, CA).

DRONE® KGF-1 INDUZ CICLO VIRTUOSO DE COMUNICAÇÃO CELULAR ENTRE QUERATINÓCITOS/EPIDERME E FIBROBLASTOS/DERME

Análise em modelo de co-cultura esferoides de queratinócitos (3D) em feeder de fibroblastos

O ciclo virtuoso de interação epitélio (queratinócitos)-mesenquima (fibroblastos e células endoteliais) executa eventos essenciais de manutenção celular, como a proliferação, migração, secreção e diferenciação, influenciando de maneira positiva em condições normais ou em intervenções, os processos de reparo tecidual, angiogênese e re-epitelização. **DRONE® KGF-1** é um mensageiro “player”



crítico neste microambiente intercamadas, e se mostrou efetivo na intensificação da comunicação estratégica entre queratinócitos e fibroblastos da pele. Deste ciclo virtuoso de interação, a equipe da Glia Innovation investigou as vias de sinalização ativadas pelo **DRONE® KGF-1**, e os resultados foram divididos de acordo com suas ações diretas e indiretas, já mencionadas anteriormente. Nota-se que **DRONE® KGF-1** estimulou de maneira indireta a produção de colágeno, por induzir a produção de TGF- β 1 em queratinócitos que induz a ativação de fibroblastos via receptor específico fortalecendo a matriz extracelular (MEC) intensificando a produção de colágeno (Figura 4). Através da dosagem da quantificação de colágeno em sistema de co-cultura celular por método colorimétrico, **DRONE® KGF-1** foi capaz de induzir a produção de colágeno tipo I +1,5 μ g a mais que o controle positivo (coat com laminina e ácido hialurônico), que já induziu aumento na produção de colágeno. O que mostra uma efetiva produção de colágeno (\pm 7,4 μ g) induzida por **DRONE® KGF-1**.



DRONE® KGF-1 – CONEXÃO CELULAR E MATRIZ EXTRACELULAR

Esferoides queratinócitos/epiderme e Feeder Fibroblastos /derme, com

DRONE® KGF-1

DRONE® KGF-1 ESTÍMULO BIOMIMÉTICO/NATURAL, INTENSIFICADOR ÁGIL DO

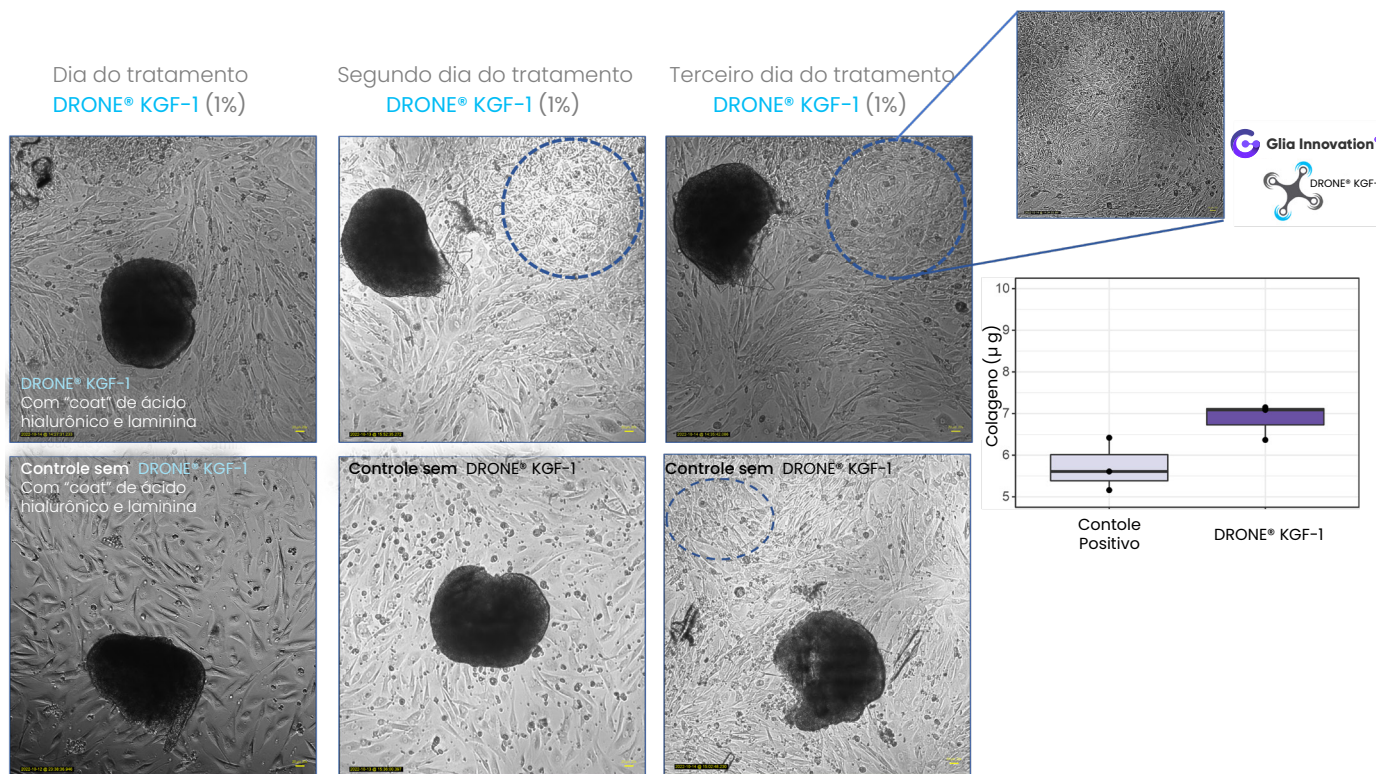


Figura 4: DRONE® KGF-1 - Análise da proliferação e renovação celular de fibroblastos (HFF-1) da derme e queratinócitos da epiderme (HaCat) em sistema 3D/esferoide co-cultura, sob o tratamento de 1% de **DRONE® KGF-1**, controle com meio suplementado sem tratamento, com coat de laminina e ácido hialurônico. Formação de esferoides de queratinócitos da pele em sistema de "feeder" (alimentação) com fibroblastos da pele (cama de sustentação e alimentação), cultivo co-cultura 2D e 3D monitorado por 4 dias [8].

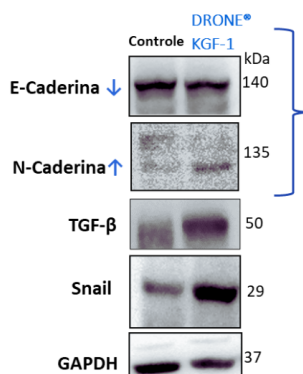


REPARO CELULAR

Ações Diretas (queratinócitos/epiderme) e Indiretas (fibroblastos/derme)

Drone® KGF-1 Intensificador do reparo tecidual

Queratinócitos/Epiderme - DRONE® KGF-1 estímulo biomimético/natural intensificador ágil do reparo celular



Queratinócitos da epiderme expressam predominantemente E-caderina, uma proteína de membrana relacionada a adesão, conexão ao citoesqueleto o que confere sua característica fenotípica (de menos movimento). No entanto sob condições e estímulo apropriados, como a presença de DRONE® KGF-1 que em condições naturais é produzido e liberado por fibroblastos, os queratinócitos passam por um processo característico de transição de motilidade, de um estado mais estático para um fenótipo de mobilidade, fenômeno conhecido como transição-epitélio mesênquima (TEM, do inglês *epithelial to mesenchymal transition* (EMT)), passando a expressar N-caderina presente em fibroblastos, células com fenótipo de motilidade. A TEM é um processo essencial e controlado nos processos de regeneração e cicatrização.

TGF-β é produzido pelos queratinócitos no processo de TEM estimulado pelo DRONE® KGF-1, e atuará em seus receptores nos fibroblastos da derme.

DRONE® KGF-1 estimula dupla sinalização parácrina (sinalização entre células vizinhas).

A comunicação parácrina iniciada pelo DRONE® KGF-1 maximiza a fidelidade da resposta celular na sinalização da renovação celular.

Snail mensageiro relacionado também a TEM foi estimulado pelo DRONE® KGF-1 corroborando com o resultado do leve aumento de N-caderina.

DRONE® KGF-1 induz a TEM em queratinócitos da epiderme, com leve aumento de N-caderina, e expressivo aumento de Snail levando a maior motilidade, de maneira CONTROLADA, focada e necessária para conferir uma renovação celular apropriada e revitalizada, combatendo os efeitos do processo de envelhecimento e conferindo proteção a pele frente aos diversos ataques externos diários.

DRONE® KGF-1 atua a TEM promovendo a expressão de N-caderina, TGF-β e Snail em Queratinócitos / epiderme
*TGF-β para atuar em fibroblastos da derme

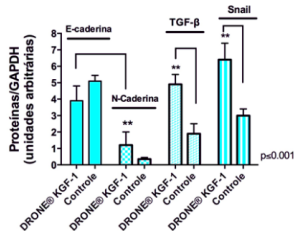
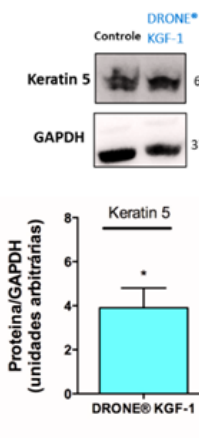


Figura 5: DRONE® KGF-1 é efetivo na ativação da cascata de sinalização específica da interação com seu receptor FGFR2-IIIb do tipo tirosina quinase, em queratinócitos da epiderme (modelo celular de co-cultura), essenciais para ativação dos processos de proliferação, migração e renovação celular. As células HaCat foram expostas ao DRONE® KGF-1 (1%) por 48h. Em seguida as células foram lisadas, e os marcadores E-caderina, N-caderina, TGF-β1, Snail (anticorpos monoclonais) foram avaliados por western blot. GAPDH, foi utilizado como normalizador e controle endógeno. Estatística ANOVA GraphPad. Imagens representativas de três experimentos independentes.



DRONE® KGF-1 induz UNIFORMIDADE à pele por estimular a conexão celular via expressão de Keratin 5

Cascata de sinalização induzida por DRONE® KGF-1

Keratin 5 ou queratina 5, juntamente com a queratina 14, são proteínas constituintes da epiderme, e formam moléculas chamadas de filamentos intermediários de queratina. Juntos, esses filamentos se organizam em redes de interações fortes que auxiliam a unir/conectar queratinócitos ancorando a epiderme às camadas subjacentes da pele.

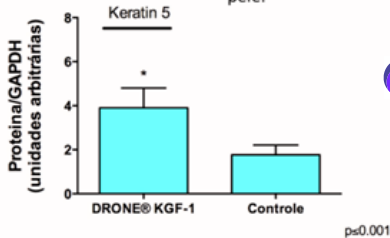


Figura 6: DRONE® KGF-1 induz a expressão de keratin 5, filamento intermediário de queratina que induz conexão e uniformidade a epiderme. Análise em queratinócitos da epiderme (HaCat) (modelo celular de co-cultura). As células HaCat foram expostas ao DRONE® KGF-1 (1%) por 48h. Em seguida as células foram lisadas, e o marcador anticorpo monoclonal keratin 5 foi avaliado por western blot. GAPDH, foi utilizado como normalizador e controle endógeno. Estatística ANOVA GraphPad. Imagens representativas de três experimentos independentes.



DRONE® KGF-1 é um fator BIOESTIMULANTE DA REGENERAÇÃO/RENOVAÇÃO CELULAR INTENSIFICANDO A UNIFORMIDADE DA PELE

Utilizando as vias de sinalização MAPK por ERK (proliferação celular) e p38 (manutenção celular)

As células estão continuamente sendo expostas a uma variedade de estímulos e estresses. E o efeito cronológico é um desses estímulos, o envelhecimento faz com que as células tenham que decidir 'ser ou não ser' dependendo dos tipos e intensidade do ambiente "inflammaging". Entre as muitas vias de sinalização que respondem a esse ambiente celular de estresse do envelhecimento, os membros da família de proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPK) são cruciais para a manutenção das células, sendo a família ERK e p38-MAPKs recrutadas estrategicamente pelo DRONE® KGF-1. p53 proteína do ciclo celular mostra que a sinalização desencadeada pelo DRONE® KGF-1 é BioSafe.

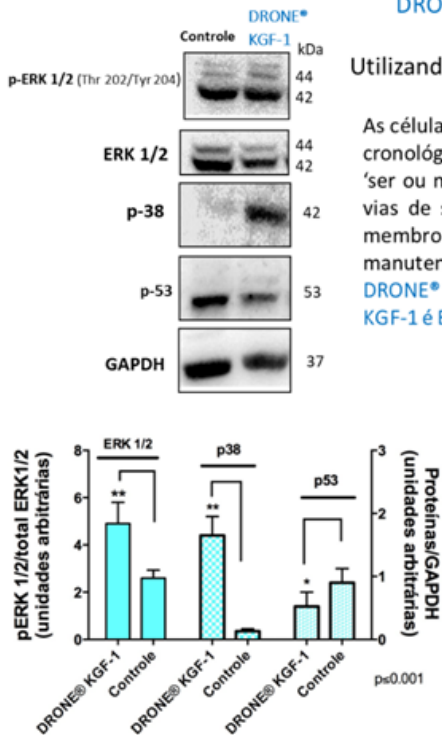


Figura 7: DRONE® KGF-1 é efetivo na ativação das vias de sinalização MAPK, como a via da ERK (proliferação celular) e p38 (manutenção celular) através da interação com seu receptor FGFR2-IIIb do tipo tirosina quinase, em queratinócitos da epiderme (modelo celular de co-cultura). As células HaCat foram expostas ao DRONE® KGF-1 (1%) por 48h. Em seguida as células foram lisadas, e os marcadores fosfo ERK 1/2, total ERK 1/2, p38 e p53 (anticorpos monoclonais) foram avaliados por western blot. GAPDH, foi utilizado como normalizador e controle endógeno. Estatística ANOVA GraphPad. Imagens representativas de três experimentos independentes.



A compactação mecânica de fibroblastos é um evento descrito nos processos de reparo tecidual, como consequência da ativação da via do TGF- β 1 pelo KGF-1 em queratinócitos. Como mencionado, TGF- β 1 é produzido por queratinócitos por estímulo do DRONE® KGF-1, para atuação exclusiva em fibroblastos, e um de seus efeitos é estimular a movimentação/ativação de fibroblastos induzindo a migração e compactação mecânica promovendo a intensificação do reparo tecido, efeito este observado em sistema 3D de cultura de esferoides de fibroblastos [9]. As ações indiretas de DRONE® KGF-1 por sinalização parácrina dupla induzem a proliferação celular, desencadeando uma auto-montagem celular levando a compactação para a organização morfológica, indicando viabilidade metabólica das células em cultura 3D (Figura 8). DRONE® KGF-1 intensifica o reparo tecidual com ações diretas e indiretas multicamadas.

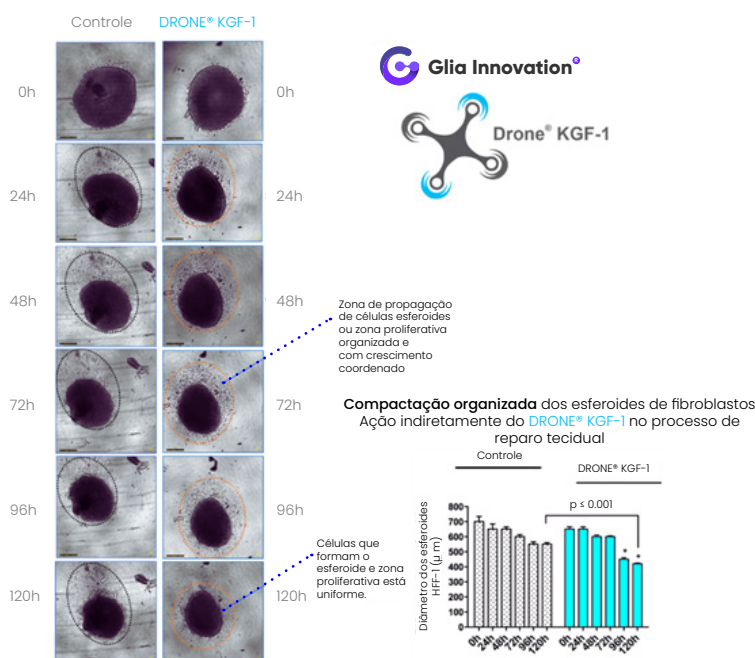


Figura 8: Ação indireta do DRONE® KGF-1 – secretoma de queratinócitos estimulados por DRONE® KGF-1 foi adicionado ao meio dos esferoides de fibroblastos. Análises de organização, proliferação e compactação de células da derme da pele (fibroblastos, linhagem HFF-1, 5 x 10³ células) em sistema 3D/esferoide em placas Nunclon Sphera 3D culture system (ThermoFisher Scientific, USA). Os esferoides recém formados (0h) foram tratados com o secretoma da cultura de queratinócitos ($\pm 50 \mu\text{g}$ do secretoma total), os esferoides controles não foram expostos ao tratamento e foram mantidos com meio apropriado (DMEM) e restrição de suplementação. O cultivo 3D foi monitorado por 5 dias (120h), observados em microscópio óptico e seu diâmetro aferido pelo programa ImageJ (escala 100 μm – aumento 10x). Ampliações indicam a zona de proliferação indicada por seta azul. Resultados representativos de n=4. A significância estatística foi observada por one-way ANOVA student's t-test.



Linha DRONE® peptídeos biomiméticos é BioSafe

CMR-free (Carcinogenic-free, Mutagenic-free, Reprotoxic-free)

Síntese de peptídeo finalizada com contra íon de acetato

Purificação: Pureza $\geq 98\%$ em Sistema HPLC

Confirmação de identidade: Sistema HPLC e Análise por Espectrometria de Massas

Além do controle de qualidade da síntese da linha DRONE® peptídeos biomiméticos, nossos testes BioSafe atestam a segurança em ensaios celulares in vitro. Utilizamos marcadores estratégicos para garantir um efeito celular controlado, coordenado e coeso em tempo e espaço (célula alvo). Para tal, utilizamos os marcadores clássicos de índice de proliferação e saúde celular (ciclo celular), as proteínas Ki-67 e p53, respectivamente. A controlada positividade para ki67 e a expressão normal/basal de p53 garantem a segurança no tratamento das células de pele, e células endoteliais vasculares (utilizadas em modelos de angiogênese) como: HaCat (queratinócitos humanos da epiderme), HFF-1 (fibroblastos humanos da derme) e HUVEC (Human Umbilical Vacular Endothelial Cells).

Sobre os marcadores:

p53 é uma proteína reguladora do ciclo celular conhecida como “guardiã do genoma. p53 impede que mutações se perpetuem e sua expressão basal está associada a normalidade. Desta forma, em condições normais e controladas, p53 deve ser detectada por western blot através de uma marcação atenuada/basal (como observamos na figura 5) [10].

Ki67 é uma proteína marcadora de proliferação celular amplamente utilizada em análises de patologia. É um marcador que quando altamente detectado,



significa que a proliferação das células está descontrolada. A sua baixa detecção significa que as células estão com o processo de proliferação celular controlado, normalizado e coordenado [11].



Sérum Facial Anti-aging **Drone KGF-1**

PRODUTOS	INCI NAME	%
FASE A		
ÁGUA	AQUA	QSP
EDTA	DISODIUM EDTA	0,1
D-PANTENOL	PANTHENOL	1,0
ÁCIDO LACTOBIÔNICO	LACTOBIONIC ACID	0,1
NATROSOL	HYDROXYETHYLCELLULOSE	0,3
FASE B		
SEPIMAX ZEN	POLYACRYLATE CROSSPOLYMER-6	0,8
FASE C		
DRONE KGF-1	PHOSPHATE BUFFERED SALINE	1
	POLOXAMER 407	
	GLYCERIN	
	SH-OLIGOPEPTIDE-5	
	CAPRYLYL GLYCOL	
	PHENOXYETHANOL	
DRONE VEGF	PENTYLENE GLYCOL	0,3
	1,2-HEXANEDIOL	
	SODIUM PHOSPHATE	
	LECITHIN	
	SH-POLYPEPTIDE-9	



DRONE IGF	PENTYLENE GLYCOL 1,2-HEXANEDIOL SODIUM PHOSPHATE LECITHIN SH-OLIGOPEPTIDE-2	0,3
DRONE FACE UP	PENTYLENE GLYCOL ETHOXYDIGLYCOL 1,2-HEXANEDIOL SODIUM PHOSPHATE LECITHIN ACETYL HEXAPEPTIDE-8	3
NANO HYALURONIC ACID	SODIUM HYALURONATE DEHYDROACETIC ACID BENZOIC ACID BENZYL ALCOHOL	5
FASE D		
ESSÊNCIA	PARFUM	0,3
FASE E		
OPTIPHEN	PHENOXYETHANOL CAPRYLYL GLYCOL	0,8



Procedimento

Em um sistema de homogeneização de hélice, solubilize o todo o EDTA e D-Pantenol da fase A na água e disperse o Natrosol. Em seguida ligue o aquecimento do sistema em 80°C e aguarde a completa solubilização do polímero. Coloque o sistema para resfriar e adicione lentamente a fase B sob agitação até que se atinja um sérum na viscosidade desejada. Ao atingir temperaturas inferiores a 30°C, os ativos presentes na fase C podem ser adicionados item a item aguardando a completa dispersão de cada insumo individual. Finalize o produto com a incorporação da fragrância presente na fase D e o conservante da fase E

Gel Creme Anti-aging **Drone KGF-1**

PRODUTOS	INCI NAME	%
FASE A		
ÁGUA	AQUA	QSP
NIACINAMIDE	NIACINAMIDE	0,5
D-PANTENOL	PANTHENOL	1,0
EDTA	DISODIUM EDTA	0,1
FASE B		
ÁLCOOL CETÍLICO	CETYL ALCOHOL	2
ÁLCOOL CETOESTEARÍLICO	CETEARYL ALCOHOL	4
ÓLEO DE ROSA MOSQUETA	ROSA CANINA FRUIT OIL	2,5
AMPHISOL K	POTASSIUM CETYL PHOSPHATE	1,5
FASE C		
SEPIMAX ZEN	POLYACRYLATE CROSSPOLYMER-6	0,8



FASE D		
DRONE KGF-1	PHOSPHATE BUFFERED SALINE POLOXAMER 407 GLYCERIN SH-OLIGOPEPTIDE-5 CAPRYLYL GLYCOL PHENOXYETHANOL	1
NANO HYALURONIC ACID	SODIUM HYALURONATE DEHYDROACETIC ACID BENZOIC ACID BENZYL ALCOHOL	5
DRONE VEGF	PENTYLENE GLYCOL 1,2-HEXANEDIOL SODIUM PHOSPHATE LECITHIN SH-POLYPEPTIDE-9	0,3



NANO OZÔNIO FACIAL

OZONIZED LINSEED OIL

ADENINE

BAKUCHIOL

TETRAHYDROXYPROPYL
ETHYLENEDIAMINE

TETRAPEPTIDE-21

HYALURONIC ACID

PENTYLENE GLYCOL

1,2-HEXANEDIOL

SODIUM PHOSPHATE

0,5

LECITHIN

SH-POLYPEPTIDE-9

STEARETH-21

SORBITAN OLEATE

C12-20 ACID PEG-8 ESTER

BENZYL ALCOHOL

DEHYDROACETIC

BENZOIC ACID



NANO Q10	COPERNICIA CERIFERA CERA STEARETH-21 SORBITAN OLEATE MACADAMIA TERNIFOLIA SEED OIL VITIS VINIFERA SEED OIL TOCOPHERYL ACETATE UBIQUINONE BENZYL ALCOHOL DEHYDROACETIC BENZOIC ACID	0,8
EXTRATOS GLICÓLICOS	-----	5
FASE E		
ESSÊNCIA	PARFUM	0,4
FASE F		
OPTIPHEN	PHENOXYETHANOL CAPRYLYL GLYCOL	0,8





Procedimento

Em um homogeneizador de hélice, dissolva os ativos da fase A na água e aqueça o sistema até 80°C. Ao atingir a temperatura máxima, adicione os insumos da fase B e aguarde a completa fusão e emulsificação dos materiais. Após completar o processo de emulsão, inicie o processo de resfriamento e adicione a fase C para ajuste de viscosidade do gel creme. Quando atingir a temperatura inferior a 30°C adicione a fase D item a item e agite até a completa dispersão dos ativos individualmente. Finalize o produto com a adição da fragrância e conservante da fase E e F.

Referências

1. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008 May 15;453(7193):314-21. doi: 10.1038/nature07039.
2. Andrade, S.S.; Faria, A.S.; Queluz, D.P.; Ferreira-Halder, C. Platelets as a 'natural factory' for growth factor production that sustains normal (and pathological) cell biology, *Biological Chemistry* 2020, 401, 471-476.
3. Andrade, S.A.; Faria, A.V.S.; Fuhler, G.M.; Peppelenbosch, M.P.; Ferreira-Halder, C.V. Biotech-educated Platelets: beyond tissue regeneration 2.0. in press. 2020.
4. Giusti I, D'Ascenzo S, Macchiarelli G, Dolo V. In vitro evidence supporting applications of platelet derivatives in regenerative medicine. *Blood Transfus*. 2020 Mar;18(2):117-129. doi: 10.2450/2019.0164-19.
5. Etulain J. Platelets in wound healing and regenerative medicine. *Platelets* 2018; 29: 556-68.
6. Peng Y, Wu S, Tang Q, Li S, Peng C. KGF-1 accelerates wound contraction through the TGF- β /Smad signaling pathway in a double-paracrine manner. *J Biol Chem*. 2019 May 24;294(21):8361-8370. doi: 10.1074/jbc.RA118.006189.
7. Sasai, Y. Cytosystems dynamics in self-organization of tissue architecture. *Nature*, 2013, 493:318-326.
5. Laschke, M.W.; Menger, M.D. Life is 3D: Boosting Spheroid Function for Tissue Engineering. *Trends in Biotechnology*, 2016, 35; 2, p.133-144.
6. Sasai, Y. Cytosystems dynamics in self-organization of tissue architecture. *Nature*, 2013, 493:318-326.
7. Repetto, G., del Peso, A. & Zurita, J. Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nat Protoc* 3, 1125-1131 (2008). <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.75>.
8. Bourland, J., Fradette, J. & Auger, F.A. Tissue-engineered 3D melanoma model with blood and lymphatic capillaries for drug development. *Sci Rep* 8, 13191 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31502-6>
9. Bielajew, B.J., Hu, J.C. & Athanasiou, K.A. Collagen: quantification, biomechanics and role of minor subtypes in cartilage. *Nat Rev Mater* 5, 730-747 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41578-020-0213-1>.
10. Lavin, M., Gueven, N. The complexity of p53 stabilization and activation. *Cell Death Differ* 13, 941-950 (2006). <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401925>
11. Uxa, S., Castillo-Binder, P., Kohler, R. et al. Ki-67 gene expression. *Cell Death Differ* 28, 3357-3370 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41418-021-00823-x>



-  +55 62 9 9202-1036
-  contato@gliai.com.br
-  @gliainnovation
-  /gliainnovation
-  /company/gliainnovation

Av. Maria Elias Lisboa Santos, Qd 05, Lt 10 e 11, Pq. Industrial, Aparecida de
Goiânia, CEP 74.993-530.