



## Nanotoxicidade de bioativos utilizando *Drosophila melanogaster* como modelo biológico

### *Bioactive nanotoxicity using *Drosophilas melanogaster* as biological model*

Pamella Gabriela Golin Aires  
pamellaga@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Rafael Porto Ineu  
rafaelineu@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Dayane Alves Leão  
leao.dayane@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Patricia Appelt  
patriciaappelt18@gmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

Odinei Hess Gonçalves  
odinei@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil

### RESUMO

Neste trabalho avaliamos a nanotoxicidade de compostos bioativos, em particular a berberina que é um alcaloide isoquinolínico, de sabor amargo e cor amarela, que possui características antioxidantes, anti-inflamatória e neuroprotetor. Nos testes foram utilizados, como modelo biológico, *Drosophila melanogaster*, pois elas apresentam alta sensibilidade a substâncias tóxicas e seu uso promove os 3Rs (redução, refinamento e substituição) da utilização de animais de laboratórios em testes de toxicidade. Com isso, foi usada a berberina livre, a berberina em etanol e nanopartículas de berberina em concentrações de 3,0, 10,0, 30,0, 100,0µM. Foram feitos testes *in vivo* e *ex vivo*. Com as análises podemos observar que nas moscas tratadas com nanopartículas de berberina na concentração mais alta houve diferença significativa quando comparada às moscas tratadas em concentrações mais baixas, tanto nos testes *in vivo* como no *ex vivo*.

**Palavras-chave:** Berberina, Nanoencapsulação, *Drosophila melanogaster*.



## ABSTRACT

This work presents research on the nanotoxicity of bioactive compounds, in particular a berberine, which is an isoquinoline alkaloid, with a bitter taste and yellow color, with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective characteristics. In the tests, *Drosophila melanogaster* was used as a biological model, as they are highly sensitive to toxic substances and their use promotes the 3Rs (reduction, refinement and replacement) of the use of laboratory animals in toxicity tests. Thus, free berberine, berberine in ethanol and berberine nanoparticles in services of 3.0, 10.0, 30.0, 100.0 $\mu$ M were used. In vivo and ex vivo tests were performed. With the analysis we can see that in flies treated with berberine nanoparticles at a concentration of 100  $\mu$ M there was a significant difference when compared to flies treated in more swamps, both in in vivo and in ex vivo tests.

**Keywords:** Berberine, Nanoencapsulation, *Drosophila melanogaster*.

## INTRODUÇÃO

Compostos bioativos trazem benefícios à saúde humana como redução de risco de desenvolvimento de doenças crônicas degenerativas (ALTEMIMI et al., 2017). Dentre os compostos bioativos podemos destacar a berberina que é um alcalóide que pode ser encontrada em raízes, caules, rizomas e cascas. Estudos relatam que a berberina possui inúmeros benefícios farmacológicos, inclusive para tratamentos contra hepatite, câncer, estomatite, diarreia e diabetes tipo dois, apresenta atividade antioxidante, antiprotozoária, antimicrobiana e anti-inflamatória. (SAHIBZADA et al., 2021).

Apesar de todos os benefícios da berberina ela tem baixa solubilidade em água e é suscetível ao oxigênio, luz e calor, resultando em baixa taxa de dissolução e biodisponibilidade, desta forma dificultando sua taxa de dissolução e seu uso clínico, levantando assim a importância da discussão de estratégias para melhorar suas limitações (SAHIBZADA et al., 2021).

Desta forma, a nanotecnologia tem sido aplicada, com foco na fabricação, caracterização e manipulação de nanoestruturas com bioativo. Da segurança alimentar à síntese molecular de novos produtos e novos ingredientes, essas aplicações na ciência de alimentos frequentemente afetam aspectos importantes, como a indústria de alimentos (PATHAKOTI; MANUBOLU; HWANG, 2017). Como estratégia para melhorar a solubilização optou-se pela nanoencapsulação da berberina. A nanoencapsulação melhora a solubilidade, causando estabilização dos materiais ativos uma vez que o material da parede atua como barreira física para proteger o composto ativo (SALARI et al., 2015).

Sobre os riscos que a nanotecnologia pode trazer ao ser humano, ainda existem muitas incertezas, devido a sua aplicação, relacionada à verificação da toxicidade das nanopartículas para avaliar seus riscos à saúde (E;HWANG, 2016);(KUMAR et al., 2020). Técnicas para a determinação da toxicidade de compostos são utilizadas principalmente em vertebrados, entretanto modelos alternativos vem substituindo efetivamente inúmeras vantagens, incluindo baixo custo (KLIMACZEWSKI et al., 2018). A toxicidade pode ser definida como uma reação adversa relacionada aos agentes físicos, químicos e biológicos nos seres humanos, animais e meio ambiente (KUMAR et al., 2020).

A *Drosophila melanogaster*, conhecida como mosca da fruta, tem muitas vantagens técnicas sobre os modelos de vertebrados, sendo fácil e barato de cultivar em condições de laboratório. Possuem um ciclo de vida mais curto, podem produzir um grande número de embriões colocados externamente e podem ser



geneticamente modificados de várias maneiras (JENNINGS, 2011). A *Drosophila melanogaster* é um organismo modelo importante que pode ser usado para avaliar a toxicidade ou os efeitos benéficos de várias substâncias químicas, incluindo aquelas derivadas de plantas, devido à proximidade sistêmica dessas espécies com os humanos, várias espécies são utilizadas como organismos modelo para estudos de toxicidade *in vivo* (EOM et al., 2017); (ANDERSEN; WINTER, 2019); (ANHOLT, 2020).

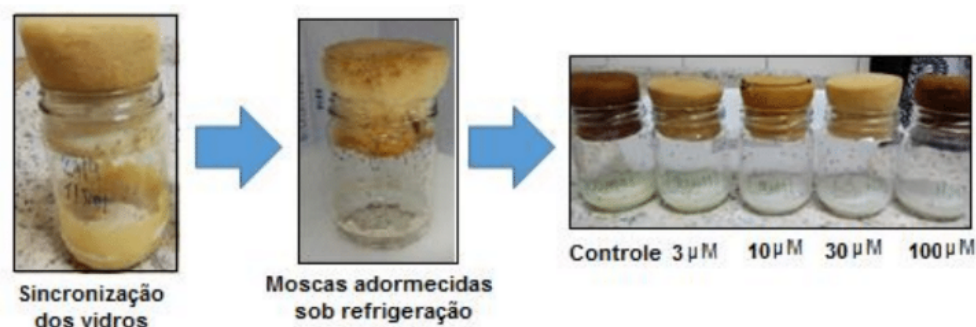
Desta forma, este estudo visa colaborar na ampliação dos conhecimentos a respeito efeitos berberina, com a utilização do método de dispersão sólida para a produção das nanopartículas e avaliando a toxicidade utilizando *Drosophila melanogaster* como modelo biológico, na tentativa de melhorar as propriedades tecnológicas do bioativo mediante experimentos *in vivo ex vivo*.

## MÉTODO

As *Drosophila melanogaster* foram criadas e mantidas em frascos de vidro na incubadora do tipo BOD, sob condições padrão ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 50% de umidade), em ciclo de 12 horas claro/escuro. Foram alimentadas com 2 colheres de sopa de meio padrão (a base de farinha de milho; levedura; sacarose; leite em pó; e antifúngico).

Para o teste *in vivo* de sobrevivência, utilizamos moscas sincronizadas (moscas com o mesmo tempo de vida). Para a sincronização foram escolhidos vidros em boas condições e que apresentaram um maior número de larvas, sendo que todas as moscas vivas foram retiradas restando apenas as larvas dentro dos vidros. Após 2 ou 3 dias, as larvas começaram a eclodir e após mais dois dias as moscas jovens tornaram-se adultas e assim utilizamos para o teste. Com as moscas anestesiadas sob-refrigeração, foram transferidas 100 moscas para o meio de análise previamente preparado (1% de ágar; 1% de levedura; 0,05% de sacarose; 1% de leite em pó; 0,08% de metilparabeno) com concentrações diferentes de berberina e controle água (3,0, 10,0, 30,0, 100,0 $\mu\text{M}$ ). O teste foi realizado com a berberina livre, berberina livre em etanol e nanopartículas de berberina.

Figura 1: Esquema ilustrativo teste *in vivo*.



Fonte: Autoria própria.

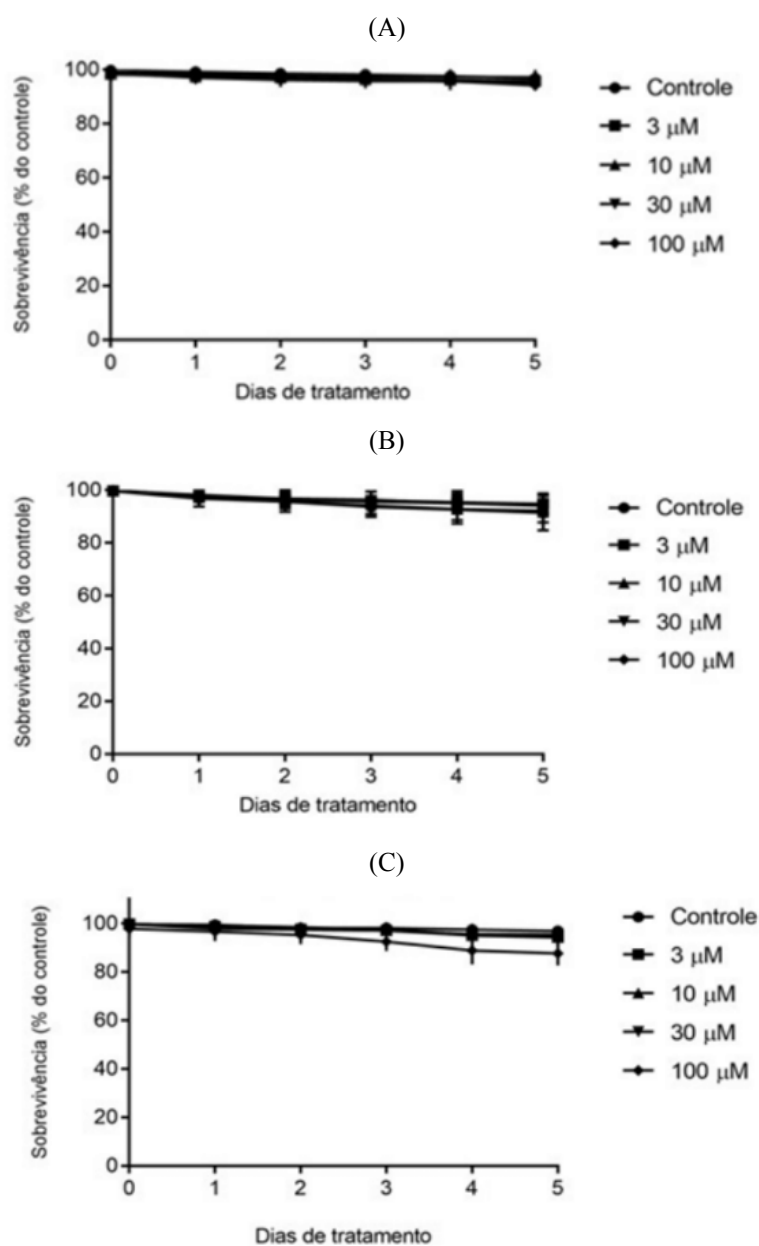
A taxa de sobrevivência foi avaliada pela contagem diária do número de moscas vivas até o final do período experimental de 5 dias (N=5) e comparadas com o grupo controle.



## RESULTADOS

Neste estudo foi determinado o efeito da dieta suplementada com berberina livre (A), berberina em etanol (B) e nanopartículas de berberina (C) na taxa de sobrevivência de *Drosophila melanogaster*.

Figura 2: Efeito da dieta suplementada com berberina livre em água (A), berberina livre em etanol (B) e nanopartículas de berberina (C) na taxa de sobrevivência de *Drosophila melanogaster*.



Fonte: Autoria própria.



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

Vale ressaltar que tanto a berberina livre em água, berberina livre em etanol e nanopartículas de berberina são dispersas em meio aquoso e, a seguir, dispersas em aditivos alimentares das *Drosophila melanogaster* que por sua vez é altamente hidrofílico.

Ao analisar os resultados, no final do tratamento de cinco dias observamos que as moscas mantidas em meio contendo berberina em água e berberina em etanol em todas as doses testadas (Fig. 2 A e B) não apresentaram alterações significativas na taxa de sobrevivência quando comparadas ao controle. Houve uma diminuição significativa na sobrevivência de moscas após o quarto dia de tratamento com nanopartículas de berberina somente na concentração de 100 $\mu$ M, quando comparado com o controle (sem suplementação com as nanopartículas contendo curcumina) (Fig. 2 C).

## CONCLUSÃO

Podemos concluir que a mortalidade das moscas em nanopartículas de berberina na concentração de 100 $\mu$ M isso ocorreu por ser uma dosagem muito elevada, entretanto essa mortalidade não atingiu a DL<sub>50</sub> permanecendo dentro dos limites de segurança, não foram encontrados na literatura sobre o efeito da berberina nas *Drosophila melanogaster* nas concentrações e período de dias utilizados neste estudo. Na literatura é possível encontrar trabalho semelhante, mas analisando a influência da curcumina na taxa de sobrevivência das drosophilas (ABOLAJI et al., 2020).

Com isso os estudos podem ser continuados e concentrações menores de nanopartículas de berberina que não causaram mudanças expressivas nos experimentos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço meu orientador pela oportunidade de participar deste projeto e ganhar experiência e conhecimento nesta área de estudo e também ao DIRPPG-CM. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior -Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. CAMulti – CM (Central analítica multiusuário da UTFPR – Campo Mourão).



## REFERÊNCIAS

- ABOLAJI, A. O. et al. Curcumin attenuates copper-induced oxidative stress and neurotoxicity in *Drosophila melanogaster*. *Toxicology Reports*, v. 7, n. January, p. 261–268, 2020.
- ALTEMIMI, A. et al. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, v. 6, n. 4, 2017.
- ANHOLT, R. R. H. Chemosensation and Evolution of *Drosophila* Host Plant Selection. *iScience*, v. 23, n. 1, p. 100799, 2020.
- ANDERSEN, M. L.; WINTER, L. M. F. e20170238 (Annals of the Brazilian Academy of Sciences) An Acad Bras Cienc. *An Acad Bras Cienc*, v. 91, n. 1, p. 1–14, 2019.
- EOM, H. J. et al. Inhalation toxicity of indoor air pollutants in *Drosophila melanogaster* using integrated transcriptomics and computational behavior analyses. *Scientific Reports*, v. 7, n. June, p. 1–15, 2017.
- HE, X.; HWANG, H. M. Nanotechnology in food science: Functionality, applicability, and safety assessment. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 24, n. 4, p. 671–681, 2016
- KLIMACZEWSKI, C. V. et al. Biomedicine & Pharmacotherapy *Peumus boldus* attenuates copper-induced toxicity in *Drosophila melanogaster*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 97, n. May 2017, p. 1–8, 2018.
- KUMAR, P. et al. Nanotechnology and its challenges in the food sector: a review. *Materials Today Chemistry*, v. 17, p. 100332, 2020
- PATHAKOTI, K.; MANUBOLU, M.; HWANG, H. ScienceDirect Nanostructures : Current uses and future applications in food science. *Journal of Food and Drug Analysis*, v. 25, p. 1–9, 201
- SALARI, R. et al. Characterization of encapsulated berberine in yeast cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, v. 14, n. 4, p. 1247–1256, 2015.
- SAHIBZADA, M. U. K. et al. Bioavailability and hepatoprotection enhancement of berberine and its nanoparticles prepared by liquid antisolvent method. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 28, n. 1, p. 327–332, 2021.