

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**BRUNA FRANZON ROSSI**

**MODULAÇÃO DAS ENZIMAS CATALASE E SUPERÓXIDO DISMUTASE EM  
TECIDOS ANIMAL E VEGETAL EXPOSTOS A NARINGENINA LIVRE E  
ENCAPSULADA**

**CAMPO MOURÃO**

**2022**

**BRUNA FRANZON ROSSI**

**MODULAÇÃO DAS ENZIMAS CATALASE E SUPERÓXIDO DISMUTASE EM  
TECIDOS ANIMAL E VEGETAL EXPOSTOS A NARINGENINA LIVRE E  
ENCAPSULADA**

***Modulation of enzymes catalase and superoxide dismutase in animal and  
vegetable tissues exposed to free and encapsulated naringenin***

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Bacharel em Engenharia de Alimentos da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Orientador: Odinei Hess Gonçalves.

Coorientador: Rafael Porto Ineu.

**CAMPO MOURÃO**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**BRUNA FRANZON ROSSI**

**MODULAÇÃO DAS ENZIMAS CATALASE E SUPERÓXIDO DISMUTASE EM  
TECIDOS ANIMAL E VEGETAL EXPOSTOS A NARINGENINA LIVRE E  
ENCAPSULADA**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Bacharel em Engenharia de Alimentos da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Data de aprovação: 08/Junho/2022

---

Odinei Hess Gonçalves  
Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Adriano Lopes Romero  
Doutorado em Educação em Ciências  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Ana Paula Peron  
Doutorado em Genética e Melhoramento  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**CAMPO MOURÃO**

**2022**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente à Deus, por ter me guiado a todo o momento na graduação.

Agradeço aos meus pais por todo apoio e suporte ao longo da caminhada.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Odinei Hess Gonçalves pelas tamanhas oportunidades concedidas, pela paciência e por todo conhecimento passado durante a graduação.

Ao meu coorientador Prof. Dr. Rafael Porto Ineu por toda ajuda no desenvolvimento do presente trabalho.

Aos demais colegas e alunos do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos que ajudaram de alguma forma na minha trajetória.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A crescente demanda por alimentos com propriedades benéficas a saúde vem promovendo cada vez mais a busca por formulações contendo compostos bioativos que possuam desempenho positivo no auxílio ao sistema antioxidante do organismo, prevenindo assim o desenvolvimento de doenças e ajudando a reparar os danos causados pelo processo de estresse oxidativo. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi produzir dispersões sólidas contendo naringenina, analisando a efetividade do método utilizado e o efeito sobre as enzimas pertencentes ao sistema endógeno do organismo, a catalase e a superóxido dismutase. Para avaliar o comportamento das dispersões nas enzimas, utilizou-se como modelos biológicos *Allium cepa* L. (cebolas) e *Drosophila melanogaster* (moscas-da-fruta). A caracterização físico-química indicou que houve a formação da dispersão sólida contendo naringenina. Os resultados mostraram, de forma geral, que o uso de naringenina tanto na forma livre quanto incorporada na dispersão sólida não inibiu a atividade da superóxido dismutase para os tecidos dos dois modelos biológicos avaliados. Para a catalase, o alto desvio padrão não permitiu avaliar significância dos resultados obtidos no modelo *Allium cepa* L. O presente trabalho encoraja a continuação dos estudos relacionados a utilização de compostos bioativos encapsulados nos alimentos para melhora dos danos causados pelas substâncias oxidantes do organismo.

Palavras-chave: antioxidantes; bioativo; dispersões sólidas; toxicidade.

## ABSTRACT

The growing demand for foods with beneficial health properties has been increasingly promoting the search for formulations containing bioactive compounds that have a positive performance in helping the body's antioxidant system, thus preventing the development of diseases, and helping to repair the damage caused by the oxidative stress. In this context, the objective of the present work was to produce solid dispersions containing naringenin, analyzing the effectiveness of the method used and the effect on the enzymes belonging to the endogenous system of the organism, catalase and superoxide dismutase. To evaluate the behavior of the dispersions in the enzymes, *Allium cepa* L. (onions) and *Drosophila melanogaster* (fruit flies) were used as biological models. The physical-chemical characterization indicated that there was the formation of a solid dispersion containing naringenin. The results showed, in general, that the use of naringenin both in the free form and incorporated in the solid dispersion did not inhibit the activity of superoxide dismutase for the tissues of the two biological models evaluated. For catalase, the high standard deviation did not allow to give significance to the results in *Allium cepa* L. The present work encourages the continuation of studies related to the use of bioactive compounds encapsulated in food to improve the damage caused by oxidizing substances in the body.

Keywords: antioxidants; bioactive; solid dispersions; toxicity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura molecular da naringenina .....	16
Figura 2 - Mecanismo de atuação SOD e CAT com o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio.....	20
Figura 3 - Curvas de DSC da dispersão sólida contendo naringenina em relação ao encapsulante, a naringenina pura e a mistura física.....	27
Figura 4 - Espectros de FTIR da dispersão sólida contendo naringenina em relação ao encapsulante, a naringenina e a mistura física .....	28
Figura 5 - Efeito sobre a atividade da enzima SOD no tecido de <i>A. cepa</i> da naringenina livre.....	29
Figura 6 - Efeito sobre a atividade da enzima SOD no tecido de <i>A. cepa</i> da naringenina nanoencapsulada.....	29
Figura 7 - Efeito sobre a atividade da enzima CAT no tecido de <i>A. cepa</i> . da naringenina livre.....	30
Figura 8 - Efeito sobre a atividade da enzima CAT no tecido de <i>A. cepa</i> . da naringenina nanoencapsulada.....	31
Figura 9 - Efeito sobre a atividade da enzima SOD <i>ex vivo</i> no tecido de <i>D. melanogaster</i> da naringenina e dispersão sólida contendo naringenina .....	32
Figura 10 - Efeito sobre a atividade da enzima CAT <i>ex vivo</i> no tecido de <i>D. melanogaster</i> da naringenina livre e de dispersão sólida contendo naringenina .....	33

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição das soluções colocadas em contato com os tecidos de <i>A. cepa</i> para verificação da atividade biológica da dispersão sólida contendo naringenina e da naringenina livre .....	22
Tabela 2 - Composição do meio de análise das moscas <i>D. melanogaster</i> para avaliação da atividade da naringenina livre.....	24
Tabela 3 - Composição do meio de análise das moscas <i>D. melanogaster</i> para avaliação da atividade da naringenina nanoencapsulada .....	24

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAT	Catalase
DSC	Calorimetria Diferencial de Varredura
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
SOD	Superóxido dismutase

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	<b>14</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1</b>	<b>Compostos bioativos em alimentos</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2</b>	<b>Naringenina</b> .....	<b>15</b>
<b>3.3</b>	<b>Obtenção de naringenina nanoencapsulada</b> .....	<b>16</b>
3.3.1	Dispersão sólida .....	17
<b>3.4</b>	<b><i>Allium cepa</i> L.</b> .....	<b>18</b>
<b>3.5</b>	<b><i>Drosophila melanogaster</i></b> .....	<b>18</b>
<b>3.6</b>	<b>Enzimas antioxidantes</b> .....	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>21</b>
<b>4.1</b>	<b>Materiais</b> .....	<b>21</b>
<b>4.2</b>	<b>Obtenção da dispersão sólida contendo naringenina</b> .....	<b>21</b>
<b>4.3</b>	<b>Caracterização</b> .....	<b>22</b>
<b>4.4</b>	<b>Preparação dos tecidos de <i>Allium cepa</i> L.</b> .....	<b>22</b>
<b>4.5</b>	<b>Homogeneização dos tecidos de <i>Allium cepa</i> L. para avaliação de atividade enzimática</b> .....	<b>23</b>
<b>4.6</b>	<b>Preparação dos meios de análise das moscas <i>Drosophila melanogaster</i></b> .....	<b>23</b>
<b>4.7</b>	<b>Homogeneização das moscas <i>Drosophila melanogaster</i> para avaliação de atividade enzimática</b> .....	<b>24</b>
<b>4.8</b>	<b>Determinação da atividade enzimática da catalase e da superóxido dismutase</b> .....	<b>25</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>27</b>
<b>5.1</b>	<b>Caracterização da dispersão sólida contendo naringenina</b> .....	<b>27</b>
5.1.1	Calorimetria Diferencial de Varredura .....	27
5.1.2	Espectroscopia do Infravermelho .....	28
<b>5.2</b>	<b>Determinação da atividade enzimática</b> .....	<b>28</b>
5.2.1	Atividade enzimática nos tecidos de <i>Allium cepa</i> L. ....	28
<u>5.2.1.1</u>	<u>Superóxido dismutase</u> .....	<u>28</u>
<u>5.2.1.2</u>	<u>Catalase</u> .....	<u>30</u>
5.2.2	Atividade enzimática em <i>Drosophila melanogaster</i> .....	32

<u>5.2.2.1</u>	<u>Superóxido dismutase .....</u>	<u>32</u>
<u>5.2.2.2</u>	<u>Catalase .....</u>	<u>33</u>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>35</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>36</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Devido às mudanças no estilo de vida da população, a demanda por alimentos funcionais tem aumentado significativamente e, assim, a adição de compostos biologicamente ativos aos alimentos e bebidas vem ganhando força devido aos seus efeitos benéficos sobre a saúde (HOLKEM; CODEVILLA; MENEZES, 2015). Os compostos bioativos são substâncias importantes pois apresentam um papel na prevenção de doenças e um perfil funcional (BAO *et al.*, 2019). São divididos em várias classes, sendo os polifenóis, os carotenoides e os glicosinolatos três importantes grupos presentes na dieta humana habitual (ARAÚJO *et al.*, 2021). A atenção de pesquisadores tem se voltado para o papel dos compostos bioativos nutracêuticos (como os polifenóis) na prevenção de doenças relacionadas ao estresse oxidativo (incluindo doenças cardiovasculares, oncológicas e relacionadas ao envelhecimento) (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005).

A naringenina é um polifenol pertencente à família das flavanonas, que é encontrada em abundância no suco de toranja, frutas cítricas e no epicarpo do tomate (AKBARZADEH; PARVARESH, 2016). Ela vem sendo amplamente estudada pois apresenta diversas atividades farmacológicas, tais como: ação antioxidante, vasorrelaxante, hepatoprotetora, anti-inflamatória e antidepressiva (LI *et al.*, 2014).

No entanto, esses compostos bioativos possuem baixa biodisponibilidade, resultado da baixa solubilidade em água e instabilidade fisiológica, possuindo um rápido processo metabólico (KAPETANOVIC *et al.*, 2011; RAJAMANI *et al.*, 2019). A biodisponibilidade da naringenina é inferior a 5% via oral e isto pode estar relacionado a sua baixa solubilidade e sua suscetibilidade à degradação com fatores físico-químicos (luz, calor, umidade, oxigênio) (BUDEL *et al.*, 2020). Uma alternativa para contornar esses problemas é o uso de técnicas de nanoencapsulação, que permitem uma melhora na solubilidade e estabilidade do composto, possibilitando assim um aumento nas respostas de uso terapêutico desses bioativos. A encapsulação pode contribuir, por exemplo, para a preservação da atividade antioxidante de substâncias instáveis e com uma baixa biodisponibilidade, proporcionando uma vida útil prolongada evitando sabores desagradáveis como adstringência e amargor quando em alta concentração (KERDUDO *et al.*, 2014).

É importante avaliar a atividade desses compostos após a sua encapsulação, a fim de melhor embasar futuros trabalhos envolvendo a obtenção de alimentos

contendo esses materiais. As cebolas *Allium cepa* L. são comumente utilizadas como tecidos para testes *in vivo* de atividades biológicas, como por exemplo, a atividade enzimática. Basicamente, as raízes ficam em contato com o material a ser analisado sendo possível verificar a influência causada pela substância química nos tecidos (NEFIC *et al.*, 2013).

Organismos-modelo são sistemas vivos onde padrões e processos biológicos completos podem ser rapidamente estudados. A mosca da espécie *Drosophila melanogaster* é um sistema considerado muito interessante para a investigação de processos neuro farmacológicos, isso porque, existe uma semelhança no modo de ação dos fármacos, no comportamento e na resposta gênica entre as moscas e os sistemas dos mamíferos (NICHOLS, 2006). As vantagens do uso da *D. melanogaster* estão relacionadas ao baixo custo de manutenção, propagação e triagem e na rapidez dos estudos em comparação com outros modelos tradicionais (PANDEY; NICHOLS, 2011).

A comunidade científica tem grande interesse nas melhorias e reparos que as defesas antioxidantes endógenas realizam no organismo contra o estresse oxidativo. Estão presentes entre as principais substâncias oxidantes na patologia humana o ânion superóxido ( $O_2^-$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). O estresse oxidativo é causado pela superprodução de  $O_2^-$  e  $H_2O_2$ , e como consequência, a conversão em oxidantes potentes, como o radical hidroxila, o ácido hipocloroso e o peroxinitrato, por exemplo. Portanto, do ponto de vista terapêutico, é benéfico a degradação do ânion superóxido e do peróxido de hidrogênio no organismo (MUZYKANTOV, 2001). As enzimas catalase e superóxido dismutase atuam no sistema antioxidante endógeno do organismo. Essas enzimas antioxidantes são responsáveis pela degradação do peróxido de hidrogênio e pela habilidade de dissociação dos ânions superóxidos (MIGUEL-DOS-SANTOS *et al.*, 2021).

O processo contínuo de estresse oxidativo provoca perda nas funções biológicas das biomoléculas e causam deficiências nas células, na qual a expressão é o dano oxidativo de células e tecidos. Esses fatores possuem implicações nas causas de muitas doenças não transmissíveis, como a aterosclerose, diabetes, obesidade, transtornos neurodegenerativos e câncer (GREEN; BRAND; MURPHY, 2004; HALLIWELL; WHITEMAN, 2004).

Os antioxidantes exógenos do organismo, que podem ser absorvidos na dieta ou por cosméticos via tópica (as vitaminas A, C e E, os flavonoides, os carotenoides,

dentre outros) podem ajudar a reforçar a atividade dos antioxidantes endógenos contra os danos causados pelos radicais livres (PONTES, 2016). Os flavonoides, como a naringenina, possuem a habilidade de sequestrar radicais livres e inibir o processo de peroxidação lipídica (BIANCHI; ANTUNES, 1999). Tendo isso em vista, esse composto bioativo apresenta potencial para a manutenção do equilíbrio do sistema antioxidante-oxidante e, conseqüentemente, uma melhora em relação ao estresse oxidativo.

Contudo, desenvolver técnicas de encapsulação que visam melhorar e ampliar a utilização de bioativos, junto a realização de testes para verificar a atividade destes compostos sobre enzimas importantes para a defesa do organismo são de grande relevância para o desenvolvimento de alimentos altamente benéficos à saúde e atrativos ao consumidor.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar a influência de uma dispersão sólida contendo naringenina sobre as enzimas que atuam no sistema antioxidante endógeno do organismo – catalase e superóxido dismutase – em raízes de *A. cepa* e em moscas da espécie *D. melanogaster*.

### 2.2 Objetivos específicos

- Obter uma dispersão sólida contendo a naringenina;
- Caracterizar o material obtido por análises de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada em Fourier (FTIR);
- Avaliar a atividade biológica *ex vivo* das dispersões sólidas contendo naringenina sobre a atividade enzimática da catalase e da superóxido dismutase nos tecidos de *A. cepa* e nas *D. melanogaster*.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Compostos bioativos em alimentos

Diversos alimentos apresentam compostos bioativos em sua composição, tais como as vitaminas, os compostos fenólicos, os ácidos graxos essenciais, entre outros. Esses compostos possuem, normalmente, baixa solubilidade em água e pouca estabilidade frente aos fatores físico-químicos (REZAEI; FATHI; JAFARI, 2019). Entre os principais compostos bioativos encontrados em alimentos estão os polifenóis ou compostos fenólicos (encontrados nos vegetais, em suas raízes, folhas, flores e frutos), os compostos sulfurados (presentes nos vegetais crucíferos) e os carotenoides (presentes na cenoura, couve, abóbora, batata-doce, tomate, beterraba, entre outros) (ARAÚJO *et al.*, 2021).

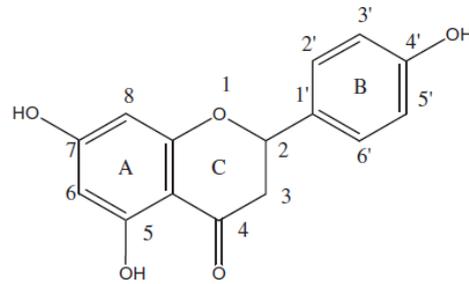
Os compostos bioativos podem atuar em diferentes alvos fisiológicos e nos seus mecanismos de ação. Esses compostos possuem potencial de óxido-redução, capacidade para competir por sítios ativos e receptores nas células e na modulação da expressão de genes que codificam proteínas ligadas a mecanismos de defesa do organismo (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009).

Devido à crescente busca por uma alimentação mais saudável e equilibrada, a indústria vem investindo cada vez mais em tecnologias para a incorporação de ingredientes funcionais nos alimentos (ROSSO *et al.*, 2019).

#### 3.2 Naringenina

A naringenina possui 15 carbonos em sua estrutura molecular, sendo a sua nomenclatura IUPAC (S)-5,7- dihidroxi-2-(4-hidrofenil) croman-4-ona e possuindo fórmula molecular  $C_{15}H_{12}O_5$ . O composto apresenta ponto de fusão entre 345 e 350°C, sendo um pó branco solúvel em solventes orgânicos (AMIN *et al.*, 2020). A Figura 1 representa a estrutura molecular da naringenina.

**Figura 1 - Estrutura molecular da naringenina**



**Fonte: AMIN *et al.* (2020)**

Segundo Karim *et al.* (2018) os mecanismos considerados tradicionais de extração e purificação da produção de naringenina de fontes naturais são restritos devido a fatores como custo elevado, baixo rendimento e pelo longo tempo gasto no processo. Por isso, a obtenção de naringenina através de microrganismos é considerado um método alternativo para se ter um bom rendimento e um menor custo.

A naringenina é um flavonoide que possui propriedades farmacológicas comprovadas, tais como: anticancerígena, antimutagênica, neuro protetora, antioxidante e anti-inflamatória (AMIN *et al.*, 2020). No entanto, apesar das diversas propriedades biológicas que a naringenina pode apresentar, existe uma suscetibilidade do composto em sofrer degradação hidrolítica, apresentando também pouca solubilidade em meio aquoso, dispendo de um metabolismo de primeira passagem e baixa biodisponibilidade por via oral. Esses fatores contribuem para a diminuição do potencial farmacológico desse composto bioativo (FERREIRA *et al.*, 2015; RATNAM *et al.*, 2006).

### **3.3 Obtenção de naringenina nanoencapsulada**

Compostos bioativos encapsulados podem ser obtidos de diversas maneiras, como por meio das técnicas de microencapsulação e nanoencapsulação. Elas são normalmente definidas como um conjunto de tecnologias que permite aprisionar ingredientes bioativos usando um material circundante conhecido como agente encapsulante (KEVEN SILVA; ANGELA A. MEIRELES, 2014). Na nanoencapsulação, os bioativos incorporados são protegidos da degradação e podem ter a sua estabilidade e solubilidade melhorada (KLAYPRADIT; HUANG, 2008).

Testes envolvendo a naringenina nanoencapsulada com os encapsulantes éter sulfobutil-ciclodextrina e quitosana pela técnica de gelificação iônica mostraram

um aumento da solubilidade do composto bioativo, sendo ainda, considerado uma alternativa para o sistema ocular de administração de medicamentos, devido a fácil administração, tempo prolongado de liberação do medicamento, biodisponibilidade ocular melhorada e frequência de dosagem reduzida (ZHANG *et al.*, 2016).

GRATIERI *et al.* (2010) avaliaram o uso da técnica de precipitação por mudança de solvente, foram obtidos complexos de inclusão de ciclodextrina com naringenina. Os testes demonstraram melhoria na estabilidade e desempenho dissolução do composto, além de melhoras no perfil anti-inflamatório em comparação com o produto *in natura*, e consequente aumento da viabilidade industrial do bioativo.

### 3.3.1 Dispersão sólida

MAYERSOHN e GIBALDI (1966) foram os primeiros a utilizarem o método de dispersão sólida. Esta técnica foi definida por (CHIOU; RIEGELMAN, 1971) , p.1283) como “a dispersão de um ou mais ingredientes ativos em uma matriz transportadora inerte em estado sólido preparada pelo método de fusão, solvente e solvente-fusão” (GHULE, 2018).

Existem alguns tipos de dispersões sólidas, entre elas estão as misturas eutéticas, precipitação amorfa em matriz cristalina, solução sólida, soluções sólidas contínuas e descontínuas, dispersões sólidas substitucionais e intersticiais, soluções vítreas. Entre as principais desvantagens no uso de dispersões está a instabilidade, já que os sistemas podem apresentar mudanças na cristalinidade e diminuição da taxa de dissolução com o passar do tempo (JASKIRAT; MANPREET, 2011). Contudo, os ganhos em biodisponibilidade, afinidade pela água e diminuição nas doses terapêuticas que comumente ocorrem nas dispersões sólidas tem encorajado seu uso principalmente em fármacos e mais recentemente na indústria de alimentos.

Os métodos para obtenção das dispersões sólidas podem ser divididos basicamente em: método de fusão (consiste no aquecimento até a fusão e posteriormente ocorre o resfriamento e solidificação rapidamente, sendo um método simples e econômico), o método do solvente (preparada pela dissolução de uma mistura de dois componentes sólidos em um solvente comum, seguido de evaporação, nessa ferramenta a decomposição térmica do fármaco é evitada devido ao emprego de baixas temperaturas de evaporação) e o método fusão-solvente (envolve as vantagens dos métodos anteriores, mas está limitado a medicamentos com dose abaixo de 50mg) (CHIOU; RIEGELMAN, 1971).

A técnica de nanoencapsulação por dispersão sólida usada no presente trabalho consiste, basicamente, em misturar um polímero encapsulante e o composto bioativo a ser encapsulado – normalmente hidrofóbico – que são solubilizados em um solvente orgânico comum. Em seguida, são submetidos ao banho de ultrassom, para indução da interação entre o polímero e as moléculas encapsuladas, finalizando com a evaporação dos solventes utilizados em estufa com circulação e renovação de ar (ALMEIDA *et al.*, 2018).

As detecções da cristalinidade e da estrutura molecular são mecanismos utilizados para a caracterização das dispersões sólidas. Algumas das técnicas utilizadas são de espectroscopia na região do infravermelho (IR ou FTIR), calorimetria exploratória diferencial (DSC), a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a termogravimetria (TGA) (DHIRENDRA *et al.*, 2009).

### **3.4 *Allium cepa* L.**

As cebolas da espécie *A. cepa* podem ser utilizadas como modelos *in vivo* de bioensaios ou como bioindicadores, sendo essa espécie uma monocotiledônea da família *Amaryllidaceae* (SILVEIRA, 2016). Esses vegetais são normalmente utilizados porque apresentam alta sensibilidade e elevado grau de conformidade com outros sistemas-teste (ARRARES; LONGHIN, 2012). A *A. cepa* tem sido usada para avaliar os efeitos de extratos vegetais, verificando a presença de genotoxicidade, mas também como agente importante no monitoramento da poluição ambiental e na avaliação da capacidade de mutagênese através do contato com compostos químicos (FACHINETTO *et al.*, 2007; MA *et al.*, 1995). Nesse contexto, esse sistema possui ótimas características cinéticas de proliferação e poucos cromossomos ( $2n=16$ ), facilitando a percepção das mudanças no fuso mitótico e de quebras cromossômicas (HERRERO *et al.*, 2012; LACERDA; MALAQUIAS; PERON, 2014). Além do mais, o uso desse bioindicador apresenta outras vantagens como facilidade de manipulação e baixo custo (BAGATINI; FERREIRA DA SILVA; TEDESCO, 2007; PAULA *et al.*, 2015).

### **3.5 *Drosophila melanogaster***

*D. melanogaster* é uma mosca de ordem taxonômica Diptera, sendo morfologicamente e geneticamente bem definidas. O grupo *melanogaster* que é

formado por cerca de 186 espécies é pertencente ao subgênero *Sophophora* proveniente do gênero *Drosophila* (MONTEIRO, 2014). Apresenta características como prole numerosa, ciclo de vida rápido, baixo custo, facilidade de obtenção e manutenção em laboratório, tamanho reduzido, fácil diferenciação dos sexos, baixo número de cromossomos ( $2n=8$ ) e cromossomos gigantes (AGUIAR, 2015) (AGUIAR, 2015; COLPO *et al.*, 2019).

Popularmente conhecida como a mosca da fruta, é amplamente utilizada pelos pesquisadores, pois apresenta capacidade de investigação de expressão gênica e de biologia celular. Devido a esses fatores, a *D. melanogaster* é usada como modelo experimental, graças à similaridade relatada entre o seu sistema endócrino em relação ao dos mamíferos (GREENSPAN, 2004; MORRIS *et al.*, 2012).

### 3.6 Enzimas antioxidantes

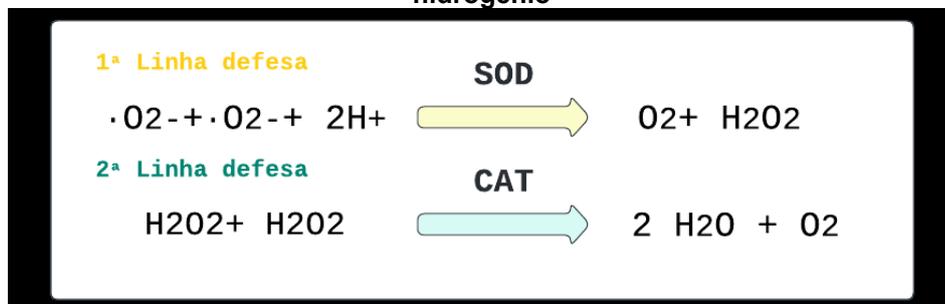
O estresse oxidativo ocorre devido ao desequilíbrio entre os compostos oxidantes e antioxidantes do organismo. Entre as substâncias oxidantes estão o oxigênio singlete ( $O_2$ ), o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), o radical hidroxila (OH) e o ânion superóxido ( $O_2^-$ ). Esses chamados intermediários oxidativos são formados quando há a redução univalente do oxigênio molecular ( $O_2$ ), o que corresponde a cerca de 2 a 5% das vezes. Os processos de formação dessas substâncias reativas ao oxigênio e ou radicais livres ocorrem principalmente nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma (BARBOSA *et al.*, 2010; FERREIRA; MATSUBARA, 1997; MITTLER, 2002).

Quando essas espécies se encontram em quantidade excessiva no organismo desencadeia-se o processo de estresse oxidativo, o que resulta na lesão de estruturas biológicas importantes para o funcionamento das células, podendo ocasionar o desenvolvimento de diversas doenças (ABDALLA, 2001; VELLOSA *et al.*, 2021). Nesse contexto, o organismo possui um sistema de defesa antioxidante que pode contribuir na inibição da formação e atuação dessas espécies reativas, como também na redução e reparo dos danos provenientes da atuação delas (CLARKSON; THOMPSON, 2000; KOURY; DONANGELO, 2003). Entre os componentes do sistema de defesa, encontram-se os antioxidantes não-enzimáticos, que são conseguidos principalmente através da dieta, também algumas proteínas e os antioxidantes enzimáticos, onde destacam-se as enzimas superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a Glutathiona Peroxidase (GPx) (VANNUCCHI *et al.*, 1998).

As enzimas superóxido dismutases (SOD) exercem o papel na dismutação do ânion superóxido ( $O_2^-$ ) em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) e oxigênio ( $O_2$ ) (MUZYKANTOV, 2001). A superóxido dismutase é a primeira linha de defesa contra o acúmulo de substâncias reativas, sendo classificadas em três tipos através de seus cofatores metálicos, como cobre/zinco (Cu/Zn-SOD), o manganês (Mn-SOD) e o ferro (Fe-SOD) que podem ser encontradas em diferentes locais nas células (GILL; TUTEJA, 2010). A versão contendo manganês é normalmente encontrada nas mitocôndrias, enquanto a com zinco e cobre fica no citoplasma (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2002).

A catalase está presente em diversos seres vivos que possuem respiração aeróbica, sendo também uma das pioneiras no que se diz respeito ao isolamento com elevado grau de pureza (FITA; ROSSMANN, 1985). É uma enzima pertencente ao sistema de defesa antioxidante das células, ajudando-as no processo de retirada de espécies reativas ao oxigênio, estando principalmente situadas nas mitocôndrias e peroxissomas (BELO; SOUZA, 2016; FERRO *et al.*, 2010). A catalase é responsável por decompor o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em água ( $H_2O$ ) e oxigênio ( $O_2$ ) através do auxílio de outras enzimas e contribui positivamente para o organismo, já que na presença de  $Fe^{2+}$ , por exemplo, o peróxido de hidrogênio se torna uma espécie muito reativa prejudicando diversas biomoléculas (SEPASI TEHRANI; MOOSAVI-MOVAHEDI, 2018). A Figura 2 a seguir demonstra esquematicamente a atuação conjunta das enzimas superóxido dismutase e catalase:

**Figura 2 - Mecanismo de atuação SOD e CAT com o ânion superóxido e o peróxido de hidrogênio**



Fonte: Adaptado de PENG *et al.* (2014)

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Materiais

Para a obtenção da dispersão sólida contendo naringenina foram utilizados álcool etílico (Dinâmica, 99,5%), o polímero Kolliphor Poloxamer 407 (massa molar de 12.000 g/gmol, Sigma-Aldrich), Tween 80 P.S. (Dinâmica) e naringenina (Sigma-Aldrich). Para a análise da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada em Fourier foi utilizado Brometo de Potássio (KBr, Sigma-Aldrich). Cebolas da espécie *A. cepa* foram adquiridas no comércio local de Campo Mourão – PR e foram utilizadas para verificação de atividade biológica. Solução tampão (TRIS - 50mM, pH 7,4) foi utilizada no processo de homogeneização das raízes das cebolas para verificação de atividade enzimática. Ágar, fermento biológico seco, leite em pó, sacarose, Nipagin (metilparabeno), álcool etílico (Dinâmica, 99,5%), naringenina pura (Sigma-Aldrich) e dispersões sólidas contendo naringenina foram utilizados para a produção dos compostos a serem utilizados como meio de análise para as moscas. Moscas *D. melanogaster* adultas foram utilizadas para verificação de atividade biológica. Solução tampão (TRIS – 50mM, pH 7,0) foi utilizada no processo de homogeneização das moscas para verificação de atividade enzimática.

Solução tampão (TFK – 50 mM, pH 7,0) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Dinâmica) foram utilizados para a determinação da atividade da catalase. Solução tampão (TFK – 100mM, pH 7,5), TEMED (Dinâmica), solução de NaOH (Dinâmica), EDTA (Dinâmica) e quercetina (Sigma-Aldrich) foram utilizados para a determinação da atividade da superóxido dismutase.

### 4.2 Obtenção da dispersão sólida contendo naringenina

Tween 80 (0,009 g), etanol (37,5 mL) e Poloxamer 407 (0,9 g) foram pesados em um béquer e submetidos ao banho de água a 60°C por 1 minuto. Posteriormente, a solução foi colocada sob leve agitação magnética por 5 minutos, após este período ocorreu a adição do bioativo (0,09 g) e a solução permaneceu em agitação magnética por mais 5 minutos. A mistura foi submetida ao sonicador (Fisher Scientific, 120 W) por 3 minutos (30 segundos ligado e 10 segundos desligado). A dispersão resultante foi evaporada em estufa com circulação e renovação de ar a 40°C por 12 horas. As amostras secas foram refrigeradas e protegidas da luz.

### 4.3 Caracterização

Para avaliar o estado físico da dispersão sólida, foi empregada a Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC, Perkin Elmer 4000). As amostras avaliadas foram de naringenina pura, a dispersão, o encapsulante e a mistura física (física manual composta da naringenina e do encapsulante). As amostras foram avaliadas com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, em uma faixa de temperatura de 0 a 400°C e com fluxo de nitrogênio gasoso de 50 mL/min.

Para identificar possíveis interações químicas entre os reagentes utilizados na obtenção da dispersão, foi realizada a análise da Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR, Shimadzu, IR Affinity-1) na faixa de 3500 cm<sup>-1</sup> a 500 cm<sup>-1</sup> com resolução de 2 cm<sup>-1</sup> e 32 *scans* acumulados.

### 4.4 Preparação dos tecidos de *Allium cepa* L.

Foram preparadas soluções da dispersão sólida contendo naringenina e de naringenina pura (livre) em 3% e 1% de concentração (g dispersão sólida do bioativo/mL H<sub>2</sub>O). Foram preparadas soluções contendo apenas o encapsulante e soluções controle, contendo apenas água destilada. As pontas das raízes ficaram em contato com as respectivas soluções por até 48 horas. Foi realizada a coleta das pontas no tempo 0, após 24 horas e ao final da análise (após as 48 horas). A relação dos componentes que foram utilizados para a preparação das soluções está descrita na Tabela 1.

**Tabela 1 - Composição das soluções colocadas em contato com os tecidos de *A. cepa* para verificação da atividade biológica da dispersão sólida contendo naringenina e da naringenina livre**

Soluções	Dispersão (gramas)	Naringenina pura (gramas)	Água destilada (mL)	(continua)
				Encapsulante P407 (gramas)
Dispersão 1%	0,9	-	90	-
Dispersão 3%	2,7	-	90	-
Livre 1%	-	0,06	60	-
Livre 3%	-	0,18	60	-

**Tabela 1 - Composição das soluções colocadas em contato com os tecidos de *A. cepa* para verificação da atividade biológica da dispersão sólida contendo naringenina**

				(conclusão)
Poloxamer 407	-	-	60	5,4
Controle	-	-	90	-

Fonte: Autoria própria (2021)

#### **4.5 Homogeneização dos tecidos de *Allium cepa* L. para avaliação de atividade enzimática**

Ocorreu a coleta das pontas de *A. cepa* no tempo 0, após 24 e após 48 horas de contato com as soluções. A cada coleta, cerca de 60 pontas de cada uma das cebolas foram retiradas com auxílio de uma pinça e colocadas em tubos do tipo eppendorf juntamente com 300 $\mu$ L de solução tampão TRIS 50mM pH 7,4. As pontas foram prensadas na solução tampão com o auxílio de um bastão de vidro.

As amostras foram submetidas à centrifugação por 10 minutos a 5000 rpm e o sobrenadante foi retirado e armazenado no congelador até a realização das análises de determinação da atividade enzimática.

#### **4.6 Preparação dos meios de análise das moscas *Drosophila melanogaster***

Para a obtenção da polenta foram pesados ágar (4,5 g), fermento biológico seco (4,5 g), leite em pó (4,5 g), sacarose (0,22 g) e nipagin (0,36 g), sendo esses componentes todos diluídos em água destilada (450 mL). A solução foi fervida e dividida em frascos estéreis (15 mL cada).

Foram preparados compostos de naringenina livre e de dispersão sólida contendo naringenina nas concentrações de 160, 210 e 250  $\mu$ g/mL. Para o preparo das soluções de naringenina livre, foi obtida uma solução estoque (SE) na concentração de 4000  $\mu$ g/mL, para isso diluiu-se naringenina pura (40 mg) em álcool etílico (10 mL). Para a obtenção das soluções de dispersão sólida contendo naringenina, também foi preparada uma solução estoque (SE) na mesma concentração, para isso diluiu-se dispersão sólida contendo naringenina (444,44 mg) em água destilada (10 mL). As soluções foram unidas ao ágar nos frascos estéreis para um volume final de 16 mL. Na Tabela 2 e na Tabela 3 estão descritas as relações

dos componentes utilizados para a preparação do meio de análise das moscas para a naringenina livre e para a dispersão, respectivamente.

**Tabela 2 - Composição do meio de análise das moscas *D. melanogaster* para avaliação da atividade da naringenina livre**

Solução	Solução Estoque – SE (µL)	Álcool etílico (µL)	Ágar (mL)
Controle (Etanol)	-	1000	15
Controle (Água)	-	1000*	15
160 µg/mL	640	360	15
210 µg/mL	840	160	15
250 µg/mL	1000	-	15

Nota: \*Nesse grupo foi utilizada água ao invés de álcool etílico.

Fonte: Autoria própria (2022)

**Tabela 3 - Composição do meio de análise das moscas *D. melanogaster* para avaliação da atividade da naringenina nanoencapsulada**

Solução	Solução Estoque – SE (µL)	Água destilada (µL)	Ágar (mL)
Controle (Água)	-	1000	15
160 µg/mL	640	360	15
210 µg/mL	840	160	15
250 µg/mL	1000	-	15

Fonte: Autoria própria (2022)

Após a solidificação do ágar mais o composto, ocorreu a transferência das moscas jovens (2-3 dias) para os meios. Para a sincronização do tempo de vida das moscas, separou-se apenas larvas. Após a eclosão das larvas (2-3 dias), as moscas foram mantidas nos vidros por um período de 2 dias até tornarem-se adultas. No terceiro dia – após a eclosão – as moscas foram transferidas para o meio de análise (100 moscas para cada meio). Para a validação dos resultados foi necessário realizar cinco vezes o experimento. Sendo que, no 5º dia de cada uma das rodadas foi preparado o homogeneizado.

#### **4.7 Homogeneização das moscas *Drosophila melanogaster* para avaliação de atividade enzimática**

A homogeneização das moscas ocorreu no 5º dia de experimento. Ocorreu a maceração manual com o auxílio de bastão de vidro de cerca de 100 moscas em 1000 µL de solução Tris-HCl 50 mM pH 7,0. O material coletado foi centrifugado a 10.000

rpm durante 10 minutos, o sobrenadante foi separado em tubos do tipo eppendorf e congelado até a realização das análises de atividade enzimática.

#### **4.8 Determinação da atividade enzimática da catalase e da superóxido dismutase**

O método empregado para determinação da atividade enzimática da catalase está descrito por AEBI (1984). A leitura foi feita no equipamento de UV-Vis (OceanOptics, Red Tide USB 650 UV). As amostras homogeneizadas foram descongeladas para a realização das análises. Em tubos de ensaio foram adicionados o tampão TFK 50 mM pH 7,0 (1800  $\mu$ L) e a amostra homogeneizada (20  $\mu$ L). O equipamento foi zerado e a leitura das amostras ocorreu em 240 nm em cubeta de quartzo. A primeira leitura foi apenas de solução tampão e amostra homogeneizada proveniente do tubo de ensaio, uma segunda leitura foi realizada imediatamente após a adição de peróxido de hidrogênio 30% ( $H_2O_2$ ) (180  $\mu$ L) - diretamente na cubeta de quartzo - e a terceira leitura foi feita após a ação de 3 minutos da substância.

O resultado foi expresso em peróxido de hidrogênio consumido/ min. A solução utilizada de peróxido de hidrogênio 30% é resultado da adição de TFK 50 mM pH 7,0 (5 mL) com peróxido de hidrogênio (170  $\mu$ L), a preparação desta solução deve ser realizada no dia da análise, em frasco âmbar. O procedimento descrito acima foi realizado em duplicata para cada uma das amostras homogeneizadas.

A atividade da superóxido dismutase é determinada pelo monitoramento da auto-oxidação da quercetina (decréscimo da absorbância) (KOSTYUK; POTAPOVITCH, 1989). A leitura das amostras ocorreu na leitora automática de microplacas (marca Thermoplate). Para a análise de cada uma das amostras homogeneizadas, foram adicionados TFK 100 mM pH 7,5 (50  $\mu$ L), água destilada (30  $\mu$ L), TEMED (40  $\mu$ L), amostra homogeneizada/tecido (20  $\mu$ L) e por último foram adicionados NaOH (20  $\mu$ L) e a quercetina (20  $\mu$ L), respectivamente. A reação começa com a adição da quercetina, a leitura ocorreu em 405 nm no momento da adição (tempo zero), após 10 minutos e por fim, após 20 minutos.

Foi realizada uma leitura sem a presença da amostra homogeneizada (tecido). TFK 100 mM pH 7,5 (50  $\mu$ L), água destilada (50  $\mu$ L), TEMED (40  $\mu$ L) e por último foram adicionados NaOH (20  $\mu$ L) e a quercetina (20  $\mu$ L), respectivamente. A leitura ocorreu da mesma maneira das outras amostras e no mesmo comprimento de onda

(405 nm). O resultado foi expresso em quantidade de enzima requerida para inibir 50% da auto-oxidação da quercetina.

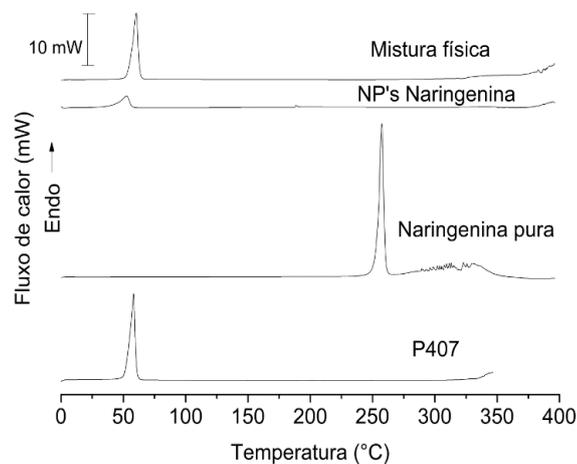
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 Caracterização da dispersão sólida contendo naringenina

#### 5.1.1 Calorimetria Diferencial de Varredura

Na Figura 3 estão apresentados os termogramas obtidos na análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) da naringenina, da dispersão sólida contendo naringenina, da mistura física e do encapsulante (P407).

**Figura 3 - Curvas de DSC da dispersão sólida contendo naringenina em relação ao encapsulante, a naringenina pura e a mistura física**



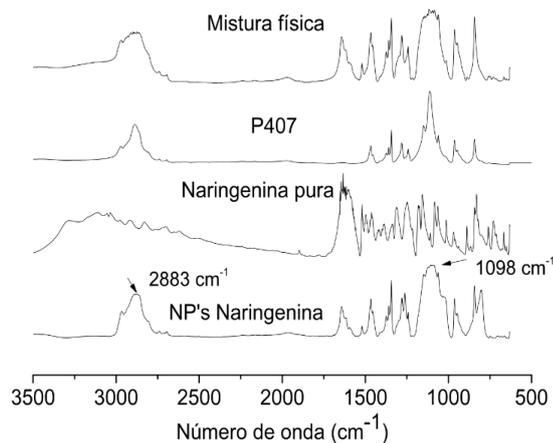
**Fonte: Autoria própria (2021)**

Nos termogramas apresentados, é possível identificar o pico da temperatura de fusão ( $T_f$ ) da naringenina em 258°C, próximo ao encontrado na literatura de 257°C (SANGPHEAK *et al.*, 2015). O pico endotérmico de fusão do polímero P407 foi encontrado próximo a 62°C, também próximo ao encontrado na literatura (57,13°C) (HURLEY *et al.*, 2020). Contudo, a fusão da naringenina não pôde ser detectada na mistura física, possivelmente devido à baixa concentração da naringenina, o que pode levar à não detecção deste composto durante a análise. Contudo, a ausência do pico de fusão de um composto encapsulado é um indicativo da sua eficiente encapsulação, pois sugere a formação de uma solução sólida amorfa (ROCHA *et al.*, 2014). Soma-se a essa evidência o fato de o pico de fusão do encapsulante P407 na dispersão ter se deslocado em relação ao seu termograma puro.

### 5.1.2 Espectroscopia do Infravermelho

A Figura 4 mostra os espectros obtidos na Espectroscopia no Infravermelho (FTIR).

**Figura 4 - Espectros de FTIR da dispersão sólida contendo naringenina em relação ao encapsulante, a naringenina e a mistura física**



**Fonte: Autoria própria (2021)**

No espectro de absorção de FTIR do P407 foi possível identificar uma banda de absorção bem definida em  $2891\text{ cm}^{-1}$  referente ao grupo C-H alifático e as bandas presentes em  $1343\text{ cm}^{-1}$  e  $1111\text{ cm}^{-1}$  confirmaram a presença de ligações C-O característicos de grupamento éter (VYAS *et al.*, 2009). E para a naringenina, os picos relativos ao grupamento OH podem ser encontrados em cerca de  $3000\text{ cm}^{-1}$ .

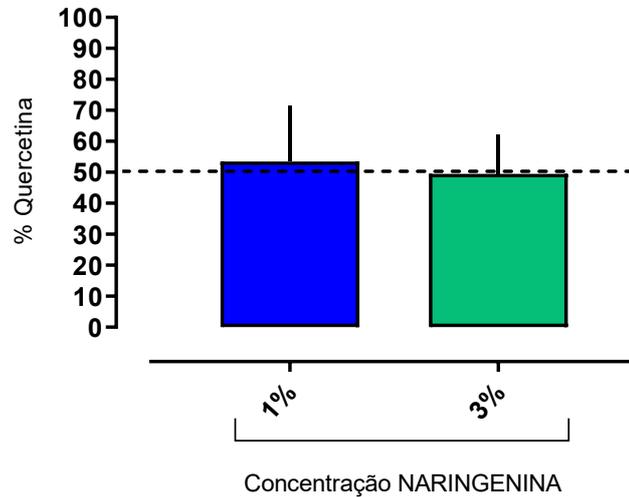
## 5.2 Determinação da atividade enzimática

### 5.2.1 Atividade enzimática nos tecidos de *Allium cepa* L.

#### 5.2.1.1 Superóxido dismutase

Nas Figuras 5 e 6 estão representados os resultados obtidos nas análises de determinação de atividade enzimática da superóxido dismutase nos tecidos de *A. cepa* com as soluções contendo naringenina livre e a dispersão sólida, nas concentrações de 1 e 3%.

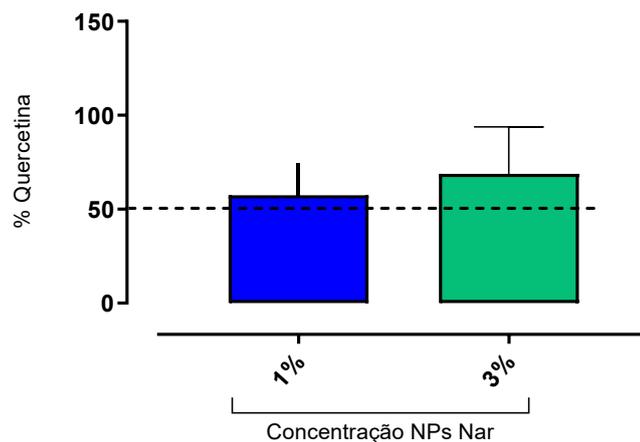
**Figura 5 - Efeito sobre a atividade da enzima SOD no tecido de *A. cepa* da naringenina livre**  
 O homogeneizado de *A. cepa* foi utilizado para avaliar a atividade da SOD, sendo que foi tratado em diferentes concentrações de naringenina livre em água destilada (1 e 3%). Diferença significativa entre o grupo controle e o tratamento com naringenina foi determinada por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.



Fonte: Autoria própria (2022)

**Figura 6 - Efeito sobre a atividade da enzima SOD no tecido de *A. cepa* da naringenina nanoencapsulada**

O homogeneizado de *A. cepa* foi utilizado para avaliar a atividade da SOD, sendo que foi tratado em diferentes concentrações de naringenina nanoencapsulada em água destilada (1 e 3%). Diferença significativa entre o grupo controle e o tratamento com naringenina foi determinada por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.



Fonte: Autoria própria (2022)

Considerando o controle fixado na inibição de 50%, percebe-se que houve aumento da inibição da auto oxidação da quercetina nos grupos avaliados, exceto

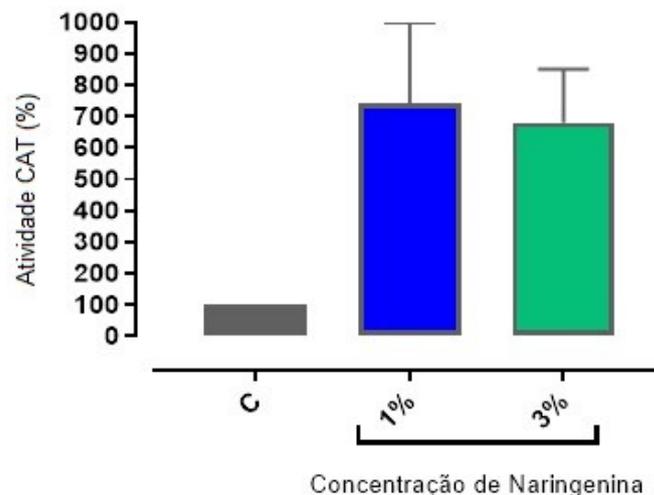
para a concentração de 3% de naringenina livre, que apresentou um valor sutilmente abaixo do esperado.

PARI e GNANASOUNDARI (2006) avaliaram o efeito da naringenina no sistema antioxidante no fígado de ratos intoxicados por oxitetraciclina. A administração com oxitetraciclina resultou na diminuição das atividades da superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase. Quando os organismos receberam a substância química juntamente com a naringenina, observaram a melhora nos parâmetros avaliados, inclusive um aumento significativo das atividades das enzimas, comprovando a capacidade antioxidante da naringenina frente ao estresse oxidativo.

### 5.2.1.2 Catalase

A seguir estão representados nas Figuras 7 e 8 os resultados obtidos acerca da análise de atividade enzimática da catalase presente nos tecidos de *A. cepa* das soluções de naringenina livre e nanoencapsulada nas concentrações de 1 e 3%, respectivamente.

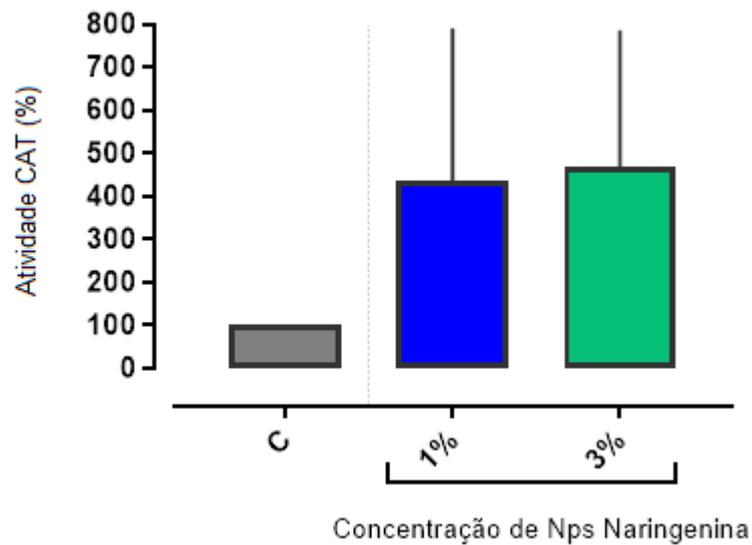
**Figura 7 - Efeito sobre a atividade da enzima CAT no tecido de *A. cepa* da naringenina livre**  
O homogeneizado de *A. cepa* foi utilizado para avaliar a atividade da CAT, sendo que foi tratado em diferentes concentrações de naringenina livre em água destilada (1 e 3%). Diferença significativa entre o grupo controle e o tratamento com naringenina foi determinada por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.



Fonte: Autoria própria (2022)

**Figura 8 - Efeito sobre a atividade da enzima CAT no tecido de *A. cepa*. da naringenina nanoencapsulada**

O homogeneizado de *A. cepa* foi utilizado para avaliar a atividade da CAT, sendo que foi tratado em diferentes concentrações de naringenina nanoencapsulada em água destilada (1 e 3%). Diferença significativa entre o grupo controle e o tratamento com naringenina foi determinada por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.



Fonte: Autoria própria (2022)

Os resultados mostram um aumento na atividade da catalase para 1 e 3% tanto na forma livre quanto nanoencapsulada, entretanto houve muita variação das análises, resultando em um desvio padrão alto e consequentemente impossibilitando a verificação de uma significância.

Existem trabalhos encontrados na literatura envolvendo a avaliação da atividade da catalase com o tratamento de naringenina frente ao estresse oxidativo. POHL *et al.* (2017) avaliaram o efeito de nanocápsulas de naringenina sobre parâmetros de estresse oxidativo em estômago de ratos. A administração da dispersão sólida contendo naringenina e da naringenina livre não influenciou a atividade da SOD, no entanto, os tratamentos testados reduziram a atividade da CAT.

FERREIRA (2017) estudou o efeito neuroprotetor da naringenina nanoencapsulada em modelo de demência induzida por estreptozotocina em camundongos. Nas análises referentes aos níveis de antioxidantes cerebrais foi verificado que não houve alteração nos níveis de atividade da catalase, mostrando homogeneidade entre os grupos experimentais. O pré-tratamento com o flavonoide livre e nanoencapsulado manteve o nível da CAT no tecido cerebral, prevenindo a sua

redução em comparação com tratamento com as nanocápsulas sem a adição do bioativo.

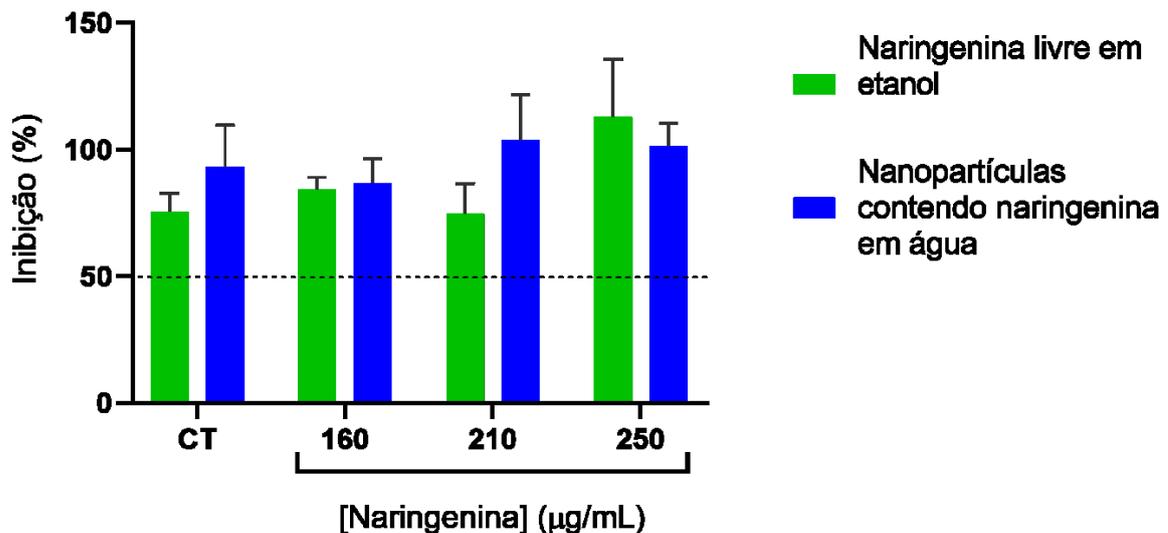
## 5.2.2 Atividade enzimática em *Drosophila melanogaster*

### 5.2.2.1 Superóxido dismutase

A Figura 9 apresenta os resultados obtidos da análise de atividade enzimática da SOD para os homogeneizados de *D. melanogaster* nas soluções de naringenina livre e nanoencapsulada em diferentes concentrações.

**Figura 9 - Efeito sobre a atividade da enzima SOD *ex vivo* no tecido de *D. melanogaster* da naringenina e dispersão sólida contendo naringenina**

A avaliação da atividade da SOD utilizou homogeneizado de *D. melanogaster* tratado com diferentes concentrações (160, 210 e 250 µg/mL de naringenina livre diluída em etanol (destaque em verde no gráfico) ou da dispersão sólida contendo naringenina diluídas em água (destaque em azul no gráfico). O controle (CT) foi incubado com etanol. A linha tracejada indica o controle realizado com a quercetina. Diferença significativa entre o grupo controle e o tratamento com naringenina foi determinada por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.



Fonte: Autoria própria (2022)

Através dos resultados obtidos, observa-se que tanto os tratamentos com naringenina livre quanto nanoencapsulada provocaram aumento no percentual de inibição da auto-oxidação da quercetina, o que demonstra que provavelmente a enzima não teve sua atividade inibida com o uso de soluções em diferentes concentrações. RAZA *et al.* (2013) avaliaram o efeito neuro protetor da naringenina em ratos através de uma abordagem farmacológica para investigar a capacidade do bioativo de prevenir o processo de estresse oxidativo e o dano cerebral inflamatório.

Verificaram entre as análises realizadas que a naringenina aumentou a atividade da SOD, sugerindo sua ampla indução de antioxidantes endógenos.

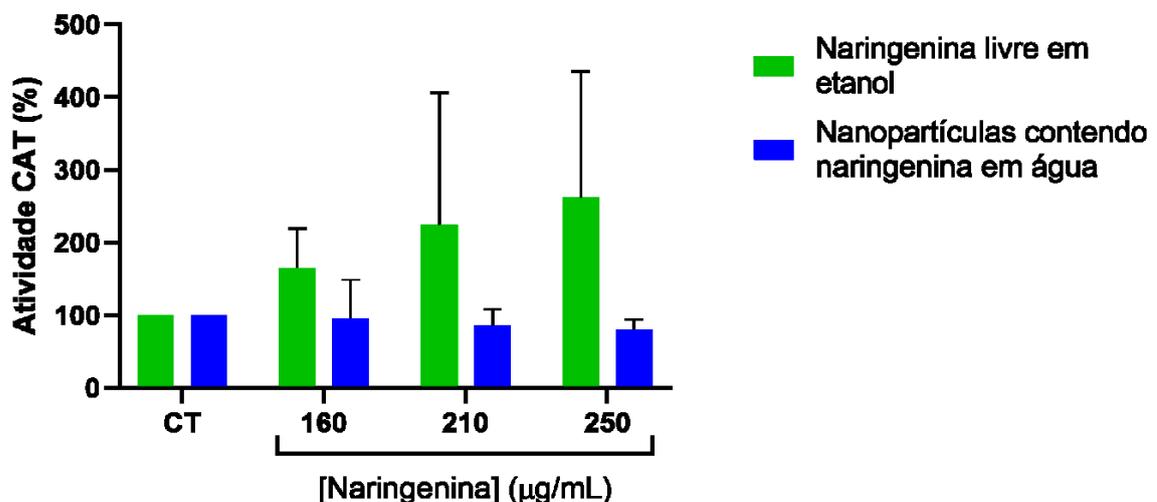
Da mesma forma, YADAV *et al.* (2022) desenvolveram uma investigação para estudar o papel positivo que a naringenina pode apresentar contra a toxicidade induzida por chumbo em linfócitos do sangue periférico sob condições de análise *in vitro*. Os autores observaram que o tratamento das células em contato com o chumbo e a naringenina resultou em uma redução no dano genético e aumento da atividade da superóxido dismutase e outras enzimas se comparado ao tratamento apenas com chumbo, comprovando assim o potencial como agente protetor que a naringenina apresenta.

### 5.2.2.2 Catalase

A seguir encontra-se a Figura 10 que apresenta os resultados obtidos nas análises de determinação de atividade enzimática da catalase para os tecidos de *D. melanogaster* tratados com soluções de naringenina livre e nanoencapsulada em diferentes concentrações.

**Figura 10 - Efeito sobre a atividade da enzima CAT *ex vivo* no tecido de *D. melanogaster* da naringenina livre e de dispersão sólida contendo naringenina**

O homogeneizado de *D. melanogaster* foi utilizado para avaliar a atividade da CAT, sendo que foi tratado com diferentes concentrações (160, 210 e 250  $\mu\text{g/mL}$ ) de naringenina livre diluída em etanol (destaque em verde no gráfico) ou da dispersão sólida contendo naringenina diluídas em água (destaque em azul no gráfico). O controle (CT) foi incubado com etanol. Diferença significativa entre o grupo controle e o tratamento com naringenina foi determinada por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo pós-teste de Tukey. \*  $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.



Fonte: Autoria própria (2022)

Dos resultados obtidos nas análises da CAT fica claro o aumento da atividade da enzima com as soluções de naringenina livre em relação ao controle. No entanto, os tecidos em contato com a dispersão sólida de naringenina – principalmente nas concentrações de 210 e 250 $\mu$ g/mL não apresentarem aumento significativo da atividade da CAT em relação ao grupo controle.

A resposta em relação ao estresse oxidativo pode ser diferente e ser influenciada por fatores como: nível e duração da exposição as espécies reativas ao oxigênio e ao contexto celular que acontece o estresse, isso pode explicar as diferenças observadas nas atividades das enzimas (WOJNAR; ZYCH; KACZMARCZYK-SEDLAK, 2018).

## 6 CONCLUSÃO

Naringenina foi utilizada na obtenção de uma dispersão sólida e a sua atividade *ex vivo* foi avaliada em modelos biológicos bem estabelecidos na literatura científica (*A. cepa* e *Drosophila melanogaster*). A análise das dispersões sólidas contendo naringenina por meio de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Espectroscopia no Infravermelho com Transformada em Fourier (FTIR) indicam evidências de formação de uma solução sólida entre a naringenina e o Poloxamer 407.

Na determinação enzimática da atividade da superóxido dismutase, tanto para os tecidos *A. cepa* quanto para as *D. melanogaster*, foi possível observar que o uso de naringenina pura e na forma de dispersão sólida não inibiu a atividade da enzima. Para a avaliação da catalase nos tecidos de *A. cepa* houve o aumento da atividade da enzima em relação ao grupo controle com a naringenina nas duas formas, no entanto, o elevado desvio padrão não permitiu avaliar a significância dos resultados. Também foi verificado aumento da atividade da CAT nas *Drosophila melanogaster*, entretanto não apresentou resultado significativo nas dispersões sólidas em maiores concentrações de bioativo.

Os resultados apresentados indicam a potencialidade de obtenção de naringenina encapsulada, assim como a continuação de estudos relacionados a encapsulação de compostos bioativos incorporados em alimentos. Além do mais, encontra-se diversos trabalhos na literatura que mostram a viabilidade do uso de naringenina como agente antioxidante e atenuadora do estresse oxidativo. A pesquisa realizada contribuirá para trabalhos futuros que objetivem o uso de naringenina encapsulada em alimentos, que se idealize agregar (novas) com propriedades benéficas à saúde.

## REFERÊNCIAS

ABDALLA, D. S. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p. 293–303, 2001. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/255635936>. Acesso em: 15 mai. 2022.

AEBI, H. [13] Catalase in vitro. **Methods in Enzymology**, v. 105, n. C, p. 121–126, 1 jan. 1984. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0076687984050163>. Acesso em: 10 nov. 2022.

AGUIAR, C. A. **Hereditariedade e evolução guia de trabalhos práticos Departamento de Biologia**. Braga: [s.n.]. Disponível em: <https://hdl.handle.net/1822/53653>. Acesso em: 23 mai. 2022.

AKBARZADEH, Z.; PARVARESH, F. The effects of Naringenin on some human breast cancer cells: A systematic review. **Archives of Breast Cancer**, v. 3, n. 2, p. 34–40, 16 maio 2016. Disponível em: <http://archbreastcancer.com/index.php/abc/article/view/78>. Acesso em: 30 mai. 2022.

ALMEIDA, H. H. S. *et al.* Bioactive evaluation and application of different formulations of the natural colorant curcumin (E100) in a hydrophilic matrix (yogurt). **Food Chemistry**, v. 261, p. 224–232, 30 set. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.056>. Acesso em: 18 mai. 2022.

AMIN, I. *et al.* Naringenin (4,5,7-trihydroxyflavanone) as a potent neuroprotective agent: From chemistry to medicine. In: **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 65 p. 271–300. Disponível em: 10.1016/b978-0-12-817905-5.00008-1. Acesso em: 22 mai. 2022.

ARAÚJO, L. *et al.* **Compostos Bioativos em Alimentos**. Rio de Janeiro: [s.n.]. Disponível em: <http://www.unirio.br/pro-reitorias-1/prae/nutricao-prae-1/quarentena/carregamento-boletins-setan-2021/boletim-no-12-2021>. Acesso em: 17 out. 2021.

ARRARES, A. I. O. M.; LONGHIN, S. R. Otimização de Ensaio de Toxicidade Utilizando o Bioindicador *Allium cepa* Como Organismo Teste. **Enciclopédia Biosfera**, p. 1959–2012, 2012. Disponível em: <https://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/engenharia/otimizacao.pdf>. Acesso em: 28 mai. 2022.

BAGATINI, M. D.; FERREIRA DA SILVA, A. C.; TEDESCO, S. B. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 3, p. 444–447, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/Jbx8XzNpdhCQRmgNdRs9F5Q/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 14 mar. 2022.

BAO, C. *et al.* The delivery of sensitive food bioactive ingredients: Absorption mechanisms, influencing factors, encapsulation techniques and evaluation models. **Food Research International**, v. 120, p. 130–140, 1 jun. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996919301115>. Acesso em: 15 mar. 2022.

BARBOSA, K. B. F. *et al.* Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Rev. Nutr**, v. 23, n. 4, p. 629–643, jun. 2010. Disponível em: <http://old.scielo.br/pdf/rn/v23n4/v23n4a13.pdf>. Acesso em: 27 mai. 2022.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, A. G. Effects of dietary bioactive compounds on obesity induced inflammation. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 5, 2009. Disponível em: [http://old.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27302009000500017&script=sci\\_abstract](http://old.scielo.br/scielo.php?pid=S0004-27302009000500017&script=sci_abstract). Acesso em: 24 mai. 2022.

BELO, M. F. R. F.; SOUZA, A. L. F. Estudo cinético da enzima catalase (E.C. 1.11.1.6) de extrato bruto de batata doce (*Ipomoea batatas*). **Scientia Plena**, v. 12, n. 7, 20 jul. 2016. Disponível em: <https://www.scientiaplenu.org.br/sp/article/view/2831/1506>. Acesso em: 14 fev. 2022.

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Bioquímica**. 5. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2002. Disponível em: <https://bibliotecadebiomedicina.blogspot.com/2019/01/livro-bioquimica-berg-tymoczko-stryer-5.html>. Acesso em: 28 mai. 2022.

BIANCHI, M. DE L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr**, v. 12, n. 2, p. 123–130, 1999. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rn/a/bzHBTqBfJr8jmJn3ZXx9nMs/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 14 out. 2021.

BUDEL, R. G. *et al.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces Toxicological evaluation of naringin-loaded nanocapsules in vitro and in vivo. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 188, n. 110754, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0927776519308987>. Acesso em: 28 mar. 2022.

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 60, n. 9, p. 1281–1302, 1971. Disponível em: [https://jpharmsci.org/article/S0022-3549\(15\)38085-0/pdf](https://jpharmsci.org/article/S0022-3549(15)38085-0/pdf). Acesso em: 14 abr. 2022.

CLARKSON, P. M.; THOMPSON, H. S. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? **AM J Clin Nutr**, v. 72, n. 3, p. 637–46, 2000. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajcn/article/72/2/637S/4729747?login=false>. Acesso em: 7 mai. 2022.

COLPO, A. Z. C. *et al.* Atividade antioxidante da farinha de couve manteiga e seu efeito nos parâmetros bioquímicos em *Drosophila Melanogaster*. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 2, n. 4, p. 2796–2801, 2019. Disponível em: <https://brazilianjournals.com/index.php/BJHR/article/view/1994/2000>. Acesso em: 16 mai. 2022.

DHIRENDRA, K. *et al.* Solid dispersions: A review. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, n. 2, p. 234–246, 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/24250932\\_Solid\\_Dispersions\\_A\\_Review](https://www.researchgate.net/publication/24250932_Solid_Dispersions_A_Review). Acesso em: 04 abr. 2022.

FACHINETTO, J. M. *et al.* Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (*Asteraceae*) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 49–54, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/nkWSzWm3b8mBsTVyQf7RNSD/?lang=pt>. Acesso em: 03 mai. 2022.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Brasil**, v. 43, n. 1, p. 61–69, 1997. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/FBtqwzvhJhcCgRbYZtp4yTQ/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 10 mai. 2022.

FERREIRA, C. F. *et al.* Desenvolvimento, Caracterização e Avaliação da Citotoxicidade de Naringina e Naringenina Nanoencapsuladas. **Disciplinarum Scientia. Série: Naturais e Tecnológicas**, v. 16, n. 2, p. 285–299, 2015. Disponível em: <https://periodicos.ufn.edu.br/index.php/disciplinarumNT/article/view/1382>. Acesso em: 31 mar. 2022.

FERREIRA, C. F. **Avaliação do efeito neuroprotetor da naringina e naringenina nanoencapsuladas em modelo de demência induzida por estreptozotocina em camundongos**. Tese de Doutorado—Santa Maria: Centro Universitário Franciscano, 2017. Disponível em: [https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFN-1\\_4bab77644dc3029105666c0b192fb62e](https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFN-1_4bab77644dc3029105666c0b192fb62e). Acesso em: 16 mai. 2022.

FERRO, C. DE O. *et al.* Atividade da catalase no pulmão, rim e intestino delgado não isquemiado de ratos após reperfusão intestinal. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 37, n. 1, p. 31–38, 2010. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rcbc/a/YwLXZk4z7d9wm35pgTCwdFw/?lang=pt>. Acesso em: 09 mai. 2022.

FITA, I.; ROSSMANN, M. G. The active center of catalase. **Journal of Molecular Biology**, v. 185, n. 1, p. 21–37, 5 set. 1985. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4046038/>. Acesso em: 09 mai. 2022.

GHULE, P. J. Amorphous solid dispersion: a promising technique for improving oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. **S Afr Pharm J**, v. 85, n. 1, p. 50–56, 2018. Disponível em: <http://www.sapj.co.za/index.php/SAPJ/article/view/2406>. Acesso em: 04 abr. 2022.

GILL, S. S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 48, n. 12, p. 909–930, 1 dez. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20870416/>. Acesso em: 12 mai. 2022.

GRATIERI, T. *et al.* A poloxamer/chitosan in situ forming gel with prolonged retention time for ocular delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 75, n. 2, p. 186–193, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S093964111000041X?via%3Di> hub. Acesso em: 14 set. 2021.

GREEN, K.; BRAND, M. D.; MURPHY, M. P. Prevention of Mitochondrial Oxidative Damage as a Therapeutic Strategy in Diabetes. **American Diabetes Association**, v. 53, 2004. Disponível em: [https://diabetesjournals.org/diabetes/article/53/suppl\\_1/S110/11614/Prevention-of-Mitochondrial-Oxidative-Damage-as-a](https://diabetesjournals.org/diabetes/article/53/suppl_1/S110/11614/Prevention-of-Mitochondrial-Oxidative-Damage-as-a). Acesso em: 18 out. 2021.

GREENSPAN, R. J. **Fly Pushing: The Theory and Practice of Drosophila Genetics**. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004. Disponível em: [http://www.fungene.tech/web\\_uploads/36ae6d960f237b82f7bdfef9a24b5055.pdf](http://www.fungene.tech/web_uploads/36ae6d960f237b82f7bdfef9a24b5055.pdf). Acesso em: 07 mai. 2022.

HALLIWELL, B.; WHITEMAN, M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? **British Journal of Pharmacology**, v. 142, n. 2, p. 231–255, maio 2004. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1574951/>. Acesso em: 18 out. 2021.

HERRERO, O. *et al.* Toxicological evaluation of three contaminants of emerging concern by use of the *Allium cepa* test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 743, n. 1–2, p. 20–24, 18 mar. 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1383571812000071?via%3Di> hub. Acesso em: 03 mai. 2022.

HOLKEM, A. T.; CODEVILLA, C. F.; MENEZES, C. R. Emulsificação/gelificação iônica interna: Alternativa para microencapsulação de compostos bioativos. **Ciência e Natura**, v. 37, p. 116–124, dez. 2015. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4675/467547645013.pdf>. Acesso em: 16 out. 2021.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 23 mar. 2005. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf030723c>. Acesso em: 17 out. 2021.

HURLEY, D. *et al.* The effect of cooling on the degree of crystallinity, solid-state properties, and dissolution rate of multi-component hot-melt extruded solid dispersions. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 3, p. 212, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7150909/>. Acesso em: 15 set. 2021.

JASKIRAT, S.; MANPREET, W.; L, H. S. Solubility enhancement by solid dispersion method: a review. **Journal of Drug Delivery & Therapeutics**, v. 2013, n. 3, p. 148–155, 2011. Disponível em: <https://jddtonline.info/index.php/jddt/article/view/632/383>. Acesso em: 18 mai. 2022.

KAPETANOVIC, I. M. *et al.* Pharmacokinetics, oral bioavailability, and metabolic profile of resveratrol and its dimethylether analog, pterostilbene, in rats. **Cancer**

**Chemotherapy and Pharmacology**, v. 68, n. 3, p. 593–601, set. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21116625/>. Acesso em: 17 out. 2021.

KARIM, N. *et al.* A recent review of citrus flavanone naringenin on metabolic diseases and its potential sources for high yield-production. **Trends in Food Science and Technology**, v. 79, p. 35-54, 1 set. 2018. Disponível em: [https://libres.uncg.edu/ir/uncg/f/Z\\_Jia\\_Recent\\_2018.pdf](https://libres.uncg.edu/ir/uncg/f/Z_Jia_Recent_2018.pdf). Acesso em: 29 mar. 2022.

KERDUDO, A. *et al.* Encapsulation of rutin and naringenin in multilamellar vesicles for optimum antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 159, p. 12–19, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24767021/>. Acesso em: 14 set. 2021.

KEVEN SILVA, E.; ANGELA A. MEIRELES, M. Encapsulation of Food Compounds Using Supercritical Technologies: Applications of Supercritical Carbon Dioxide as an Antisolvent. **Food and Public Health**, v. 4, n. 5, p. 247–258, 1 out. 2014. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/273002019\\_Encapsulation\\_of\\_Food\\_Compounds\\_Using\\_Supercritical\\_Technologies\\_Applications\\_of\\_Supercritical\\_Carbon\\_Dioxide\\_as\\_an\\_Antisolvent](https://www.researchgate.net/publication/273002019_Encapsulation_of_Food_Compounds_Using_Supercritical_Technologies_Applications_of_Supercritical_Carbon_Dioxide_as_an_Antisolvent). Acesso em: 26 fev. 2022.

KLAYPRADIT, W.; HUANG, Y. W. Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, n. 6, p. 1133–1139, jul. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643807002368>. Acesso em: 26 fev. 2022.

KOSTYUK, V. A.; POTAPOVITCH, A. I. Superoxide-driven oxidation of quercetin and a simple sensitive assay for determination of superoxide dismutase. **Biochemistry International**, v. 19, p. 1117–1124, 1989. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2561443/>. Acesso em: 14 mai. 2022.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinc, oxidative stress and physical activity. **Revista de Nutrição**, v. 16, n. 4, p. 433–441, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rn/a/BhXWBSZLdCG7q8dYF3tcTGm/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 10 mai. 2022.

LACERDA, L. P.; MALAQUIAS, G.; PERON, A. P. Antiproliferative action of aqueous extracts of *Hymenaea stigonocarpa* Mart. (*Fabaceae*) on the cell cycle of *Allium cepa* L. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, n. 3, p. 1147–1150, 1 set. 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aabc/a/MVpzJzm8zVjMxsRfRVXH9cb/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 03 mai. 2022.

LI, P. *et al.* Six months chronic toxicological evaluation of naringin in Sprague–Dawley rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 66, p. 65–75, 1 abr. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0278691514000374?via%3Di> hub. Acesso em: 18 out. 2021.

MA, T. H. *et al.* The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and**

**Related Subjects**, v. 334, n. 2, p. 185–195, 1 abr. 1995. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7885371/>. Acesso em: 03 mai. 2022.

MAYERSOHN, M.; GIBALDI, M. New method of solid-state dispersion for increasing dissolution rates. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 55, n. 11, p. 1323–1324, 1966. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5969799/>. Acesso em: 04 abr. 2022.

MIGUEL-DOS-SANTOS, R. *et al.* Strength training reduces cardiac and renal oxidative stress in rats with Renovascular hypertension. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 1, p. 4–11, 2021. Disponível em: [http://old.scielo.br/scielo.php?pid=S0066-782X2021000100004&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://old.scielo.br/scielo.php?pid=S0066-782X2021000100004&script=sci_arttext&tlng=en). Acesso em: 07 out. 2021.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 9, p. 405–410, 1 set. 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12234732/>. Acesso em: 10 mai. 2022.

MONTEIRO, A. G. F. **Filogenia de espécies do grupo *willistoni* de *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae) baseada em genes do Elemento F de Müller**. Dissertação de Mestrado—Vitória de Santo Antão: Universidade Federal de Pernambuco, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/13004/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20Amanda%20Gabriela%20Monteiro.pdf>. Acesso em: 08 mai. 2022.

MORRIS, S. N. S. *et al.* Development of diet-induced insulin resistance in adult *Drosophila melanogaster*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1822, n. 8, p. 1230–1237, 1 ago. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22542511/>. Acesso em: 07 mai. 2022.

MUZYKANTOV, V. R. Targeting of superoxide dismutase and catalase to vascular endothelium. **Journal of Controlled Release**, v. 71, n. 1, p. 1–21, 12 mar. 2001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168365901002152?via%3Di> hub. Acesso em: 17 out. 2021.

NEFIC, H. *et al.* Chromosomal and nuclear alterations in root tip cells of allium cepa L. Induced by alprazolam. **Medical archives (Sarajevo, Bosnia and Herzegovina)**, v. 67, n. 6, p. 388–392, 1 dez. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4272485/>. Acesso em: 15 mai. 2022.

NICHOLS, C. D. *Drosophila melanogaster* neurobiology, neuropharmacology, and how the fly can inform central nervous system drug discovery. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 112, n. 3, p. 677–700, 1 dez. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16935347/>. Acesso em: 18 mar. 2022.

PANDEY, U. B.; NICHOLS, C. D. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n. 2, p. 411–436, jun. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21415126/>. Acesso em: 18 mar. 2022.

PARI, L.; GNANASOUNDARI, M. Influence of naringenin on oxytetracycline mediated oxidative damage in rat liver. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 98,

p. 456–461, 2006. Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-7843.2006.pto\\_351.x](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-7843.2006.pto_351.x). Acesso em: 23 mai. 2022.

PAULA, R. P. DE *et al.* Sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de citotoxicidade e genotoxicidade em *Aristolochia elegans* Mast. **Enciclopédia Biosfera**, p. 2015, 2015. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/1902>. Acesso em: 03 mai. 2022.

PENG, C. *et al.* Biology of ageing and role of dietary antioxidants. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3996317/>. Acesso em: 13 mai. 2022.

POHL, A. R. *et al.* Effect of nanocapsules with naringin and naringenin on oxidative stress parameters in rats stomach. **Disciplinarum Scientia**, v. 18, n. 3, p. 459–471, 2017.

PONTES, A. L. DA S. **Atividade antioxidante de flavonoides na prevenção do envelhecimento cutâneo**. Rio de Janeiro: [s.n.]. Disponível em: <http://www.uezo.rj.gov.br/tcc/farmacia/Amanda-Let%C3%ADcia-da-Silva-Pontes.pdf>. Acesso em: 18 out. 2022.

RAJAMANI, S. *et al.* Naringenin-Loaded TPGS Polymeric Nanosuspension : In-Vitro and In- Vivo Anti-Inflammatory Activity. **Indonesian Journal of Pharmacy**, v. 30, n. 3, p. 225–232, 2019. Disponível em: <https://indonesianjpharm.farmasi.ugm.ac.id/index.php/3/article/view/1514>. Acesso em: 18 set. 2021.

RATNAM, D. V. *et al.* Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. **Journal of Controlled Release**, v. 113, n. 3, p. 189–207, 20 jul. 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16790290/>. Acesso em: 13 mar. 2022.

RAZA, S. S. *et al.* Neuroprotective effect of naringenin is mediated through suppression of NF- $\kappa$ B signaling pathway in experimental stroke. **Neuroscience**, v. 230, p. 157–171, 29 jan. 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306452212010561>. Acesso em: 15 mai. 2022.

REZAEI, A.; FATHI, M.; JAFARI, S. M. Nanoencapsulation of hydrophobic and low-soluble food bioactive compounds within different nanocarriers. **Food Hydrocolloids**, v. 88, p. 146–162, 1 mar. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X18311743>. Acesso em: 24 mar. 2022.

ROCHA, B. *et al.* Curcumin encapsulated in poly-L-lactic acid improves its anti-inflammatory efficacy *in vivo*. **Advancement in Medicinal Plant Research**, v. 2, n. 4, p. 62–73, 2014. Disponível em: [http://www.netjournals.org/z\\_AMPR\\_14\\_029.html](http://www.netjournals.org/z_AMPR_14_029.html). Acesso em: 12 fev. 2022.

ROSSO, A. C. *et al.* Microencapsulação de Compostos Bioativos em Alimentos. **Boletim Técnico Científico IF Farroupilha**, v. 5, p. 63–76, 2019. Disponível em:

<https://periodicos.iffarroupilha.edu.br/index.php/boletimtecnicocientifico/article/view/27>. Acesso em: 23 mar. 2022.

SANGPHEAK, W. *et al.* Physical properties and biological activities of hesperetin and naringenin in complex with methylated  $\beta$ -cyclodextrin. **Beilstein Journal of Organic Chemistry**, v. 11, n. December 2015, p. 2763–2773, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4734351/>. Acesso em: 14 set. 2022.

SEPASI TEHRANI, H.; MOOSAVI-MOVAHEDI, A. A. Catalase and its mysteries. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 140, p. 5–12, 1 dez. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29530789/>. Acesso: 22 mai. 2022.

SILVEIRA, G. L. **Modelos vegetais aplicados a estudos de toxicologia ambiental: Uma abordagem comparativa entre *Allium cepa* L. e *Lactuca sativa* L.** Dissertação de Mestrado—Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2016. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/11892>. Acesso em: 02 mai. 2022.

VANNUCCHI, H. *et al.* Papel dos Nutrientes na Peroxidação Lipídica e no Sistema de Defesa Antioxidante. **Nutrição Clínica**, p. 31–44, jan. 1998. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/7316>. Acesso em: 10 mai. 2022.

VELLOSA, J. C. R. *et al.* Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152–10168, 2021. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/23823>. Acesso em: 10 mai. 2022.

VYAS, V. *et al.* Physicochemical characterization of solid dispersion systems of tadalafil with poloxamer 407. **Acta Pharmaceutica**, v. 59, n. 4, p. 453–461, 2009. Disponível em: <https://sciendo.com/article/10.2478/v10007-009-0037-4>. Acesso em: 10 set. 2021.

WOJNAR, W.; ZYCH, M.; KACZMARCZYK-SEDLAK, I. Antioxidative effect of flavonoid naringenin in the lenses of type 1 diabetic rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 974–984, 1 dez. 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332218341659>. Acesso em: 15 mai. 2022.

YADAV, B. *et al.* Ameliorative role of naringenin against lead-induced genetic damage and oxidative stress in cultured human lymphocytes. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, 2022. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jbt.23036>. Acesso em: 10 out. 2022.

ZHANG, P. *et al.* Preparation and evaluation of naringenin-loaded sulfobutylether- $N_L$ -cyclodextrin / chitosan nanoparticles for ocular drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 149, p. 224–230, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861716304921?via%3Di> hub. Acesso em: 04 out. 2022.