



UFOP

Universidade Federal
de Ouro Preto

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE NUTRIÇÃO**



IVANA DE CASTRO GOMES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *IN VITRO* DO GUARANÁ
EM PÓ DE USO COMERCIAL (*Paullinia cupana*).**

OURO PRETO

2021

IVANA DE CASTRO GOMES

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA *IN VITRO* DO GUARANÁ
EM PÓ DE USO COMERCIAL (*Paullinia cupana*).**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Colegiado do Curso de Nutrição, da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Nutrição.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Melina Oliveira de Souza

Coorientadora: Mestre Carina Cristina Pena.

OURO PRETO

2021

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

G633a Gomes, Ivana De Castro.

Avaliação da atividade anti-inflamatória in vitro do guaraná em pó de uso comercial (*Paullinia cupana*). [manuscrito] / Ivana De Castro Gomes. - 2021.

58 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Melina Oliveira de Souza.

Coorientadora: Ma. Carina Cristina Pena.

Monografia (Bacharelado). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Graduação em Nutrição .

1. Agentes antiinflamatórios. 2. Fenóis. 3. Guaraná. I. Pena, Carina Cristina. II. Souza, Melina Oliveira de. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 612.39

Bibliotecário(a) Responsável: Sonia Marcelino - CRB6/2247



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
ESCOLA DE NUTRICAÇÃO
DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS



FOLHA DE APROVAÇÃO

Ivana de Castro Gomes

Avaliação da atividade anti-inflamatória *in vitro* do guaraná em pó de uso comercial (*Paullinia cupana*).

Monografia apresentada ao Curso de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Nutricionista

Aprovada em 16 de dezembro de 2021

Membros da banca

Dra. Melina Oliveira de Souza - Orientadora Universidade Federal de Ouro Preto
Msc. Carina Cristina Pena - Coorientadora
Dra. Renata Adrielle Lima Vieira - Universidade Federal de Ouro Preto
Msc. Thainá Gomes Peixoto - Universidade Federal de Ouro Preto

Melina Oliveira de Souza, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 05/01/2022.



Documento assinado eletronicamente por **Melina Oliveira de Souza, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 05/01/2022, às 10:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0264627** e o código CRC **7E960A0E**.

Referência: Caso responda este documento, indicar expressamente o Processo nº 23109.012473/2021-80

SEI nº 0264627

R. Diogo de Vasconcelos, 122, - Bairro Pilar Ouro Preto/MG, CEP 35400-000
Telefone: 3135591844 - www.ufop.br

“Você é o que repetidamente faz. Excelência não é um evento, é um hábito.” (Aristóteles)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me guiado e me dado força para conseguir concluir essa etapa.

Agradeço aos meus pais, Irineu e Ivone que me proporcionaram vivenciar essa experiência, através do incentivo e todo apoio necessário ao longo dessa trajetória, muito obrigada pelo amor incondicional. Agradeço também a minha irmã Jéssica, por todo o apoio.

Agradeço ao Thales, meu amigo e companheiro, por sempre me acolher nos momentos difíceis, sempre me incentivando e acreditando em mim.

Agradeço às minhas amigas, Carol, Tamara, Esthér e Letícia, meu quinteto fantástico, por todo o companheirismo, carinho e incentivo durante essa jornada, sem vocês o caminho teria sido mais difícil. Agradeço também ao Helton, pela amizade e apoio.

Agradeço à Prof^a. Melina, minha orientadora e por quem tenho uma admiração imensa, pela paciência, dedicação e ensinamentos que possibilitaram a realização deste trabalho. Agradeço também a minha coorientadora, a mestre Carina, por toda contribuição e ajuda.

Agradeço também à prof.^a. Dr^a. Fernanda Guimarães Drummond e Silva – Escola de Nutrição/UFOP, à Doutoranda Thainá Gomes Peixoto, ao Lamup em Bioquímica Nutricional e Biologia Molecular – Bionut, ao Laboratório de Imunoparasitologia Coordenado pelo Prof. Luís Carlos Crocco Afonso.

Agradeço a minha República Americana (Ex Alunas e moradoras), pela amizade, aprendizados e companheirismo durante os anos de graduação. À UFOP pelo ensino de qualidade e gratuito. Agradeço também aos mestres e funcionários da Escola de Nutrição que tanto somaram na minha formação. Agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

O estilo de vida da população pode estar associado ao desenvolvimento de um quadro de inflamação sistêmica crônica de baixo grau, sendo este um dos fatores subjacentes associados ao desenvolvimento de muitas doenças metabólicas. O consumo de alimentos ricos em compostos bioativos pode contribuir positivamente para o controle desse quadro inflamatório. Dentre os alimentos, os produtos de origem vegetal apresentam destaque em sua composição nutricional em relação à presença desses compostos bioativos. Um exemplo é o guaraná (*Paullinia cupana*), uma espécie nativa da região amazônica e de grande importância econômica para nosso país. O presente estudo tem como objetivo realizar a avaliação da atividade anti-inflamatória *in vitro* do guaraná em pó de uso comercial (*Paullinia cupana*). As amostras do guaraná em pó foram obtidas em comércio local da cidade de Ouro Preto - MG. Em seguida foi realizado o extrato aquoso dessa amostra onde foi avaliado a concentração de polifenóis totais pelo método colorimétrico do reagente de *Folin-Ciocalteu*. Realizado o ensaio de viabilidade celular, pelo método do MTT (método de brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio) em células do tipo RAW 264.7 e a quantificação da produção de óxido nítrico em células onde a inflamação foi induzida pelo lipopolissacarídeo e tratadas por diferentes concentrações do extrato aquoso do guaraná em pó. Como resultados da análise da concentração de polifenóis totais, obtive o valor de $1766,67 \pm 126,87$ mg EAG em 100 g guaraná em pó. Em relação a viabilidade celular, em todas as concentrações 2mg/mL, 1,5mg/mL, 1 mg/mL, 0,5mg/mL, e 0,1mg/mL do extrato aquosos do guaraná em pó utilizadas os resultados obtidos foram igual ou maior que 80% de viabilidade celular. Ao avaliar a produção de NO• foi possível observar uma redução significativa desse mediador inflamatório com a utilização do extrato nas concentrações de 1,0 e 1,5mg/mL. Os resultados obtidos sugerem que o extrato do guaraná em pó de uso comercial pode possuir ação anti-inflamatória. Entretanto, há a necessidade de novos estudos que quantifique e avalie outros mediadores inflamatórios envolvidos na cascata de sinalização da inflamação.

Palavras-chave: Atividade anti-inflamatória; Compostos fenólicos; Guaraná; *Paullinia cupana*.

ABSTRACT

The population's lifestyle may be associated with the development of low-grade chronic systemic inflammation, which is one of the underlying factors associated with the development of many metabolic diseases. The consumption of food rich in bioactive compounds can positively contribute to the control of this inflammatory condition. Among foods, products of plant origin stand out in their nutritional composition in relation to the presence of these bioactive compounds. One example is the guaraná (*Paullinia cupana*), a species native to the Amazon region and of great economic importance for our country. This study aims to carry out an evaluation of the *in vitro* anti-inflammatory activity of guarana powder for commercial use (*Paullinia cupana*). The samples of powdered guarana were obtained from a local store in the city of Ouro Preto - MG. Then, the aqueous extract of this sample was performed, where the concentration of total polyphenols was evaluated by the colorimetric method of the *Folin-Ciocalteu* reagent. The cell viability assay was performed by the MTT method (3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide method) in RAW 264.7 type cells and the quantification of the production of nitric oxide in cells where inflammation was induced by lipopolysaccharide and treated by different proceeds from the aqueous extract of powdered guarana. As a result of the analysis of the concentration of total polyphenols, we obtained a value of 1766.67 ± 126.87 mg EAG in 100 g guarana powder. Regarding cell viability, in all the aqueous extract of guarana powder options used 2mg/mL, 1.5mg/mL, 1mg/mL, 0.5mg/mL, and 0.1mg/mL, the results obtained were equal to or greater than 80% of cell viability. When evaluating the production of NO• it was possible to observe a decrease in this inflammatory mediator with the use of the extract at 1.0 and 1.5mg/mL concentrations. The results obtained suggest that the extract of Guarana powder for commercial use may have an anti-inflammatory action. However, further studies are needed to quantify and evaluate other inflammatory mediators involved in the inflammation-signaling cascade.

Keywords: Anti-inflammatory activity; Phenolic compounds; Guarana; *Paullinia Cupana*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: O estresse oxidativo e o TNF na ativação da via inflamatória do NF- κ B...	19
Figura 2: Causas e consequências da inflamação sistêmica crônica de baixo grau. .	21
Figura 3: Principais classes dos compostos fenólicos.....	23
Figura 4: Fruto do guaranazeiro maduro.....	26
Figura 5: Curva padrão de ácido gálico.....	35
Figura 6: Análise da viabilidade celular em células do tipo RAW 264.7, submetidas ao tratamento com diferentes concentrações do extrato aquoso do guaraná em pó.	40
Figura 7: Produção de óxido nítrico nos sobrenadantes de células do tipo RAW 264.7 após a indução da inflamação com lipolissacarídeo (LPS) e em seguidas tratadas ou não com diferentes concentrações do extrato aquoso do guaraná em pó.	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais características do quadro de inflamação aguda e inflamação crônica.....	16
Tabela 2: Concentrações das soluções de ácido gálico para a construção da curva padrão.....	34
Tabela 3: Quantidade de polifenóis totais presentes no guaraná em pó de uso comercial*.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

COX-2- Ciclo-oxigenase-2

DCNTs- Doenças crônicas não transmissíveis

DEXA- Dexametasona

DNA- Ácido desoxirribonucleico

EAG- Equivalente de ácido gálico

EMBRAPA- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

eNOS- Enzima óxido nítrico sintase endotelial

ERN- Espécie reativa de nitrogênio

ERO- Espécie reativa de oxigênio

IFN- γ - Interferon gama

IKK- Complexo I κ B quinase

IL- 10- Interleucina 10

IL- 15- Interleucina 15

IL- 2- Interleucina 2

IL- 23- Interleucina 23

IL- 4 - Interleucina 4

IL- 6 – Interleucina 6

IL- 8- Interleucina 8

IL-1- Interleucina 1

IL-17- Interleucina 17

IL-1 β -Interleucina 1 beta

IMC- Índice de massa corporal

iNOS- Enzima óxido nítrico sintase induzida

I κ B- Proteína inibitória Kappa B

LPS- Lipopolissacarídeo

MTT- Método de brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio

NF- κ B- Fator nuclear kappa B

nNOS- Enzima óxido nítrico sintase neuronal

NO•- Óxido nítrico

NOS- Enzima óxido nítrico sintase

OMS- Organização Mundial da Saúde

SISGEN - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento

Tradicional Associado

TLR4- Receptor Toll-like

TNF-Fator de necrose tumoral

VEGF- Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 INFLAMAÇÃO	15
2.2 INFLAMAÇÃO E DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS	19
2.3 POLIFENÓIS E SUA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA.....	23
2.4 GUARANÁ (<i>paullinia cupana</i> VAR. <i>sorbilis</i> (MART.) DUCKE).....	25
3. OBJETIVOS	30
3.1 OBJETIVO GERAL	30
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	30
4. METODOLOGIA	31
4.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA.....	31
4.2 MATERIAL E REAGENTES UTILIZADOS	31
4.3 PREPARO DO EXTRATO AQUOSO.....	31
4.4 QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS.....	32
4.5 CULTURA DE CÉLULAS E ENSAIO DA PRODUÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS.....	35
4.5.1 Cultivo das células	35
4.5.2 Ensaio de viabilidade celular.....	35
4.5.3 Produção de mediadores inflamatórios.....	36
4.5.4 Determinação da produção de oxido nítrico.....	37
5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
6. RESULTADOS.....	39
6.1 CONCENTRAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS.....	39
6.2 VIABILIDADE CELULAR.....	39
6.3 PRODUÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	40

6.3.1 Determinação da produção de oxido nítrico.....	40
7. DISCUSSÃO	42
8. CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS.....	47
ANEXO 1- COMPROVAÇÃO SISGEN	56
ANEXO 2- PUBLICAÇÕES GERADAS.....	57

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, as doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs) são consideradas uma das principais causas de morte no mundo todo, sendo um grande desafio para a saúde pública no século 21 (WHO, 2018b). No Brasil, essas doenças são responsáveis por mais da metade das causas de mortalidade, apresentando em 2019 um registro de 738.371 óbitos (BRASIL, 2021). A literatura tem demonstrado cada vez mais uma estreita relação entre a presença de um quadro de inflamação crônica sistêmica de baixo grau e o desenvolvimento de algumas DCNTs como, a obesidade, doenças cardiovasculares e diabetes (VOLP *et al.*, 2008).

Esse quadro de inflamação crônica sistêmica de baixo grau pode ser capaz de ativar o sistema imune de forma persistente, e essa mudança na resposta inflamatória pode causar danos teciduais em alguns órgãos no decorrer do tempo (GERALDO; ALFENAS, 2008). Essa ativação do sistema imune inato de forma constante faz com que aconteça a liberação de mediadores inflamatórios como a interleucina (IL- 6) e fator de necrose tumoral (TNF) (VOLP *et al.*, 2008), sendo esse, em linhas gerais, o principal mecanismo descrito que envolve inflamação e o desenvolvimento das DCNTs (FURMAN *et al.*, 2019).

Um mediador inflamatório que também pode estar relacionado com o desenvolvimento de DCNTs é o óxido nítrico (NO•). O NO• é um radical livre que está envolvido em diversos processos fisiológicos, como na destruição de microrganismos e células tumorais. Porém, esse mediador químico é altamente tóxico, sendo que essa toxicidade acontece em eventos onde o quadro de estresse oxidativo, ou seja, um desequilíbrio do sistema *redox*, está presente (DUSSE; VIERIRA; CARVALHO, 2003). O NO• é sintetizado pela ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS) e gerado a partir da arginina, em condições fisiopatológicas, o NO• é produzido por três isoformas distintas da NOS: NOS neuronal (nNOS), NOS induzível (iNOS) e NOS endotelial (eNOS) (POSADAS *et al.*, 2004). A iNOS é uma das enzimas mais estudada, devido ao fato da sua expressão estar relacionada à processos inflamatórios. Sua expressão leva a uma produção elevada de NO•, o qual pode participar na formação de espécies reativas no decorrer do estresse oxidativo (SERVATO, 2016).

Uma forma de modular essa ativação constante da via inflamatória, seria através da modificação dos hábitos alimentares da população. Neste sentido, a introdução de alimentos ricos em compostos bioativos pode trazer benefícios à saúde (OLIVEIRA *et al.*, 2020). Os alimentos de origem vegetal como por exemplo, frutas, hortaliças e legumes, são considerados boas fontes de polifenóis (LÔBO; SILVA; MENEZES, 2020). Dentre os compostos bioativos presentes nos alimentos, o consumo de polifenóis e prevenção da inflamação tem chamado atenção da literatura científica (YAHFOUFI *et al.*, 2018; KOCH, 2019).

Dentre os diversos alimentos de origem vegetal nativos da região amazônica, um fruto que apresenta importante atividade econômica é o guaraná (*Paullinia cupana*). Os estados que mais produzem guaraná no Brasil são Amazonas e Bahia, a produção referente ao período de março/2020 a março/2021 foi um total de 1.305 toneladas de guaraná, sendo que o Amazonas teve uma produção de 605 toneladas e a Bahia produziu 700 toneladas (CONAB, 2021).

O mercado brasileiro consome cerca de 90% da produção do guaraná, assim, a exportação do guaraná é referente a 10% da produção, sendo ela realizada com o guaraná em sua forma comercial, como xaropes, sementes e pó. Por ano a exportação de guaraná é estimada de 300 a 500 toneladas, o que gera um lucro de US\$ 15 milhões (AGROSPICE, 2021). Grande parte do consumo do guaraná é devido a sua grande quantidade de cafeína (SILVA, *et al.*, 2017) e os principais estudos encontrados na literatura sobre os efeitos benéficos do seu consumo estão relacionados a cafeína e seu efeito estimulante, sendo que, os outros possíveis efeitos biológicos do guaraná ainda não são amplamente estudados (SCHIMPL *et al.*, 2013).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa avaliou a composição nutricional e a quantidade de polifenóis totais presentes no guaraná em pó de uso comercial, os resultados encontrados mostram que esse fruto é uma boa fonte de fibra alimentar e polifenóis totais, os quais exercem uma importante atividade antioxidante *in vitro* (OLIVEIRA, 2021). Diante dos resultados obtidos, nosso grupo de pesquisa resolveu continuar a estudar as bioatividades do guaraná em pó de uso comercial, assim o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade anti-inflamatória *in vitro* desse alimento, buscando conhecer melhor as propriedades funcionais de um alimento nativo do Brasil.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 INFLAMAÇÃO

Em linhas gerais, define-se inflamação como uma resposta a lesões teciduais ou a infecções, com a finalidade de eliminar o agente agressor e iniciar o processo de reparo tecidual (KUMAR *et al.*, 2013). Quando ocorre alguma lesão ou algum dano a célula, o principal objetivo desse processo é a proteção contra invasores microbianos e a entrada de antígenos. Diante disso, o processo inflamatório é caracterizado como a primeira resposta de proteção ao organismo contra esses invasores, envolvendo inúmeros mediadores e células. Uma resposta inflamatória bem-sucedida é um processo essencial para que ocorra a eliminação de fatores deletérios ao corpo, bem como para restaurar a fisiologia normal, sendo que qualquer problema durante essa resposta inflamatória pode ocasionar morbidades ou até mesmo diminuir o tempo de vida do indivíduo (TASNEEM *et al.*, 2019).

Em determinadas situações, como por exemplo em episódios de infecção intensa, ou quando o agente responsável pela inflamação não é eliminado e persiste, ou quando a resposta inflamatória é voltada para os antígenos do próprio organismo como nas doenças auto imunes, a resposta inflamatória, que inicialmente tinha o propósito de proteger o organismo, pode gerar danos teciduais ao hospedeiro. Nestes casos existe possibilidade de persistência do quadro inflamatório, podendo causar diversas consequências patológicas devido principalmente à uma produção exacerbada e descontrolada de algumas substâncias, como mediadores inflamatórios, enzimas proteolíticas e metabólitos do oxigênio (KUMAR *et al.*, 2013).

Para controle desse quadro inflamatório, o organismo conta com o sistema imunológico, que pode ser dividido em imunidade inata e adaptativa. A imunidade inata é caracterizada por uma resposta rápida, porém inespecífica, já a resposta imune adaptativa é caracterizada pela sua especificidade, variedade de reconhecimento e memória (CRUVINEL *et al.*, 2010). Cabe ressaltar que, a resposta inflamatória pode ser dividida em dois quadros: agudo e crônico. A resposta aguda é

rápida e de curta duração, já o processo crônico é caracterizado por um intervalo de tempo maior (BILATE, 2007).

No processo de inflamação agudo observa-se alterações vasculares, edema e infiltração de neutrófilos, enquanto o processo crônico é caracterizado pelo predomínio de infiltrado de células mononucleares, como os macrófagos, fibroblastos, células plasmáticas e linfócitos, e uma destruição tecidual que ocorre pelo próprio agressor, seguida da tentativa de reparo que gera a fibrose tecidual. Em relação às manifestações externas da inflamação, elas são denominadas de sinais cardinais e são classificadas em calor, rubor, edema, dor e perda de função (KUMAR *et al.*, 2013). A tabela 1 exemplifica as principais diferenças entre as fases aguda e crônica da inflamação e os agentes envolvidos nesses processos.

Tabela 1: Principais características do quadro de inflamação aguda e inflamação crônica.

	Inflamação Aguda	Inflamação Crônica
Agente causal	Patógenos orgânicos, radiação ionizante, agentes químicos, lesão mecânica	Permanência do estímulo inflamatório inicial, autoimunidade
Células envolvidas	Principalmente neutrófilos	Macrófagos, monócitos e linfócitos
Mediadores primários	Aminas vasoativas, eicosanoides, quimiocinas, espécies reativas de oxigênio	IFN- γ , Citocinas, fatores de crescimento, enzimas hidrolíticas
Início	Rápido: minutos ou horas	Lento: dias
Duração	Poucos dias	Meses ou anos
Evolução	Cicatrização com restituição ou cronificação	Destruição tecidual e fibrose

Fonte: Adaptado de CRUVINEL *et al.*, (2010).

No processo inflamatório há presença de mediadores inflamatórios, que podem ser divididos em citocinas pró-inflamatórias (interleucinas - IL-1, IL-6, IL-15,

IL-17, IL-23, TNF), citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10), adipocinas (adiponectina), quimiocinas, mediadores de inflamação derivados de hepatócitos, marcadores de consequência da inflamação, como a microalbumina urinária e enzimas (VOLP *et al.*, 2008).

Dentre as citocinas pró-inflamatórias, o TNF é considerado o principal mediador químico da resposta inflamatória aguda, pois ele possui uma atividade biológica pleiotrópica, ou seja, possui múltiplas ações, com ação parácrina, endócrina e autócrina (VOLP *et al.*, 2008). Os vários estímulos inflamatórios gerados levam a ativação dos macrófagos e células T, causando uma maior secreção do TNF, que age a partir do *feedback* positivo, assim, altas concentrações de TNF levam a uma maior liberação de TNF e outras citocinas, como por exemplo a interleucina, IL-8. Quando essa secreção de TNF não é controlada ou passa a ser crônica, esse mediador pode intermediar algumas doenças, principalmente as doenças inflamatórias crônicas, como por exemplo a doença de crohn (TASNEEM *et al.*, 2019).

Em resumo, as principais funções exercidas pelo TNF na inflamação são o recrutamento de células do sistema imune e a capacidade de estimular a síntese de outras citocinas, ele também possui ação na ativação da transcrição de vias, que levam ao desenvolvimento de um quadro de desequilíbrio *redox*, responsável por um dano celular importante (AKASH; REHMAN; LIAQAT, 2018), como na ativação da via de transdução de sinal do fator nuclear kappa b (NF- κ B) (TASNEEM, 2019).

Outro mediador envolvido no processo inflamatório é o NO•. Trata-se de um gás solúvel resultante do metabolismo da L-arginina pela ação da enzima óxido nítrico sintase (NOS). Existem três formas diferentes de NOS: a endotelial (eNOS), a neuronal (nNOS), sendo essas formas constitutivas e localizadas no tecido endotelial e no tecido nervoso respectivamente, e a induzida, (iNOS), que participa de processos inflamatórios, pois é expressa em células envolvidas na inflamação, como os macrófagos (HONG; SUN; CAI, 2009).

O NO• possui algumas funções biológicas, em especial no que diz respeito aos vasos sanguíneos, ele pode atuar na regulação do tônus vascular, na pressão arterial, na prevenção da agregação plaquetária, na inibição da adesão de monócitos ao endotélio vascular, além do efeito antiproliferativo, também possui função no sistema nervoso central, atuando como neurotransmissor (TRIPATHI *et*

al., 2007, DUSSE; VIERIRA; CARVALHO, 2003)). Em relação às suas propriedades químicas, o NO• é considerado um radical livre, pois possui um elétron desemparelhado e, devido a essa característica, pode reagir facilmente com outras moléculas, como o oxigênio, radical superóxido, com o ferro, manganês, cobre ou cobalto que são metais de transição (CERQUEIRA; YOSHIDA, 2002). Nessa perspectiva, devido a reação química envolvida entre o NO• com o superóxido, há a produção de peroxinitrito, ácido peroxinitroso e seus produtos, que são compostos extremamente oxidantes, sendo assim, compostos capazes de causar danos celulares importantes, podendo levar a um quadro de desequilíbrio *redox* conhecido como estresse oxidativo (BARRETO; CORREIA; MUSCARÁ, 2005).

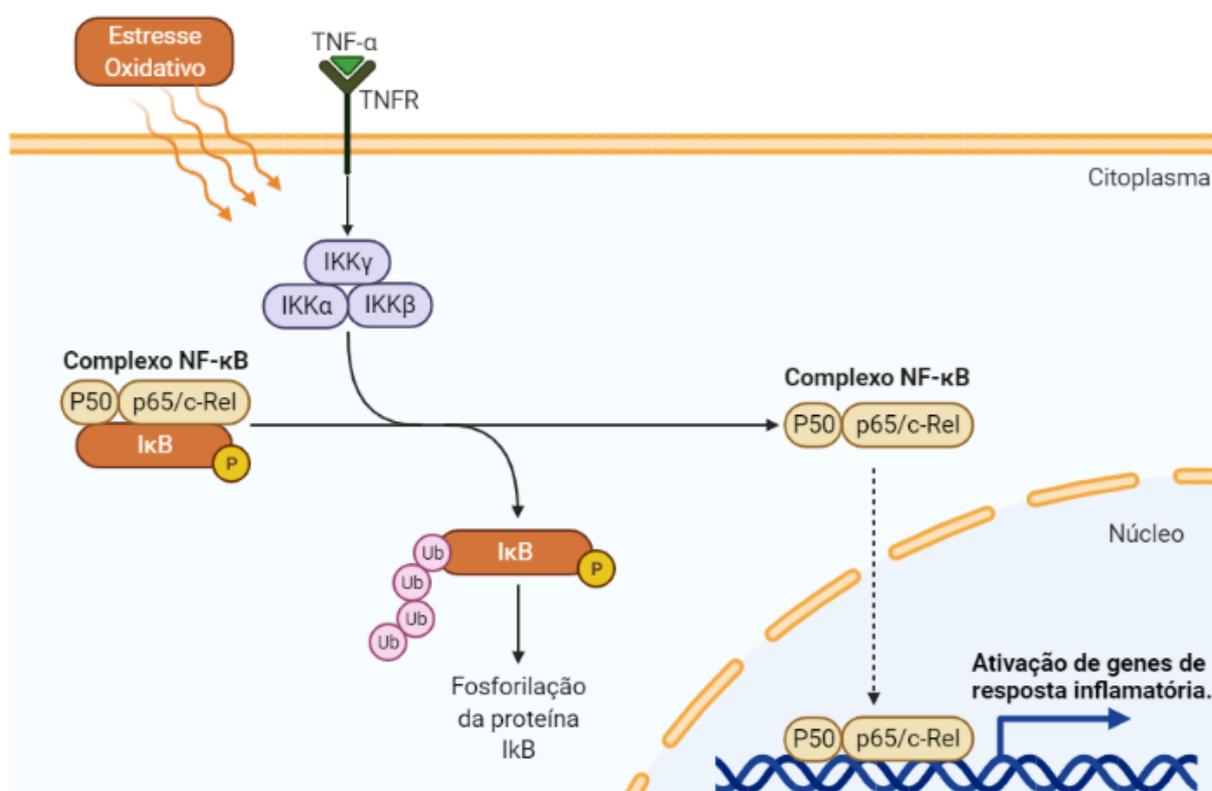
O estresse oxidativo pode ser definido como um desequilíbrio entre o sistema de defesa antioxidante e os processos pró-oxidantes, como a geração de espécies reativas de nitrogênio (ERN) ou espécies reativas de oxigênio (ERO). Essa produção exacerbada das espécies reativas em situações que o sistema de defesa não está preparado para combater, pode levar à ativação de vias de sinalização *redox* e inflamatória como a ativação do fator de transcrição NF- κ B (YAHFOUFI *et al.*, 2018; POLJSK; ŠUPUT; MILISAV, 2013).

O fator de transcrição NF- κ B é uma proteína que possui papel primordial na produção de citocinas, sobrevivência celular e transcrição do ácido desoxirribonucleico (DNA), além de apresentar função de controle das respostas imunológicas, como no processo inflamatório, proliferação, apoptose celular e estresse. Vários genes que fazem parte da inflamação são controlados e expressados pelo fator de transcrição NF- κ B, como as citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-2, IL-6 e TNF), ciclo-oxigenase-2 (COX-2), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), moléculas de adesão, quimiocinas, entre outros (YAHFOUFI *et al.*, 2018).

Em relação às suas características, o fator de transcrição NF- κ B, possui essencialmente duas subunidades, denominadas de p50 e p65, chamadas de complexo NF-Kb, em condições fisiológicas normais o NF- κ B permanece no citoplasma das células junto com uma proteína inibidora chamada I κ B, quando acontece estímulos inflamatórios e oxidativos, como a ação de lipopolissacarídeo (LPS), citocinas ou vírus, ocorre a ativação do complexo IKK (complexo I κ B quinase), que leva a fosforilação da proteína I κ B, resultando na translocação e

ligação do NF- κ B para o núcleo da célula onde se liga a sua região promotora, induzindo assim a transcrição de mediadores pró-inflamatórios, como citocinas, COX-2 e a iNOS (TASNEEM, 2019). Na figura 1, está representado como o TNF e o estresse oxidativo possui relação com a ativação da via inflamatória do NF- κ B, sendo que, esse estresse oxidativo pode ser causado pelo aumento do radical livre NO• e suas interações químicas com outros compostos.

Figura 1: O estresse oxidativo e o TNF na ativação da via inflamatória do NF- κ B.



Fonte: Criado com BioRender.com, adaptado de XIAO (2014) e AHMED *et al.*, (2017). TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; TNFR1: Receptor de TNF; IKK: complexo I κ B quinase; I κ B: Proteína inibitória Kappa B; IKK γ : subunidade reguladora denominada modulador essencial NF- κ B (NEMO); P: fosforilação; Ub: ubiquitinação; p65 e p50: Subunidades do NF- κ B.

2.2 INFLAMAÇÃO E DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS

No Brasil e no mundo as DCNTs caracterizam um dos maiores problemas em saúde pública. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) as DCNTs são responsáveis por 71% das 57 milhões de mortes que ocorreram no mundo em

2016 (WHO, 2018b). No cenário brasileiro, essas doenças foram responsáveis no ano de 2016 por 74% do total de mortes, destacando as cardiovasculares (28%), doenças respiratórias (6%), neoplasias (18%) e diabetes (5%) (WHO, 2018a). Sendo importante ressaltar, um aumento crescente de outras DCNTs na população adulta brasileira, como a hipertensão arterial e diabetes (BRASIL, 2019).

Segundo a pesquisa do Vigitel (2019), entre os períodos de 2006 e 2019 houve aumento da prevalência de alguns importantes fatores de risco para o aparecimento dessas doenças no Brasil, como a obesidade ($IMC \geq 30\text{kg/m}^2$), que no ano de 2006 apresentava 11,8% e passou para 20,3% em 2019 e o excesso de peso ($IMC \geq 25\text{ kg/m}^2$), que em 2006 era de 42,6% passando a ser de 55,4% em 2019 (BRASIL, 2020). A obesidade está presente em 16,8% dos homens e 24,4% das mulheres da população adulta brasileira (FERREIRA; SZWARCOWALD; DAMACENA, 2019). Vale ressaltar que além do excesso de peso, existe um conjunto de fatores de risco em comum para a maioria das DCNTs, sendo eles classificados como fatores de risco modificáveis, como o tabagismo, a inatividade física, alimentação inadequada e o consumo frequente e excessivo de bebidas alcoólicas (WHO, 2018a).

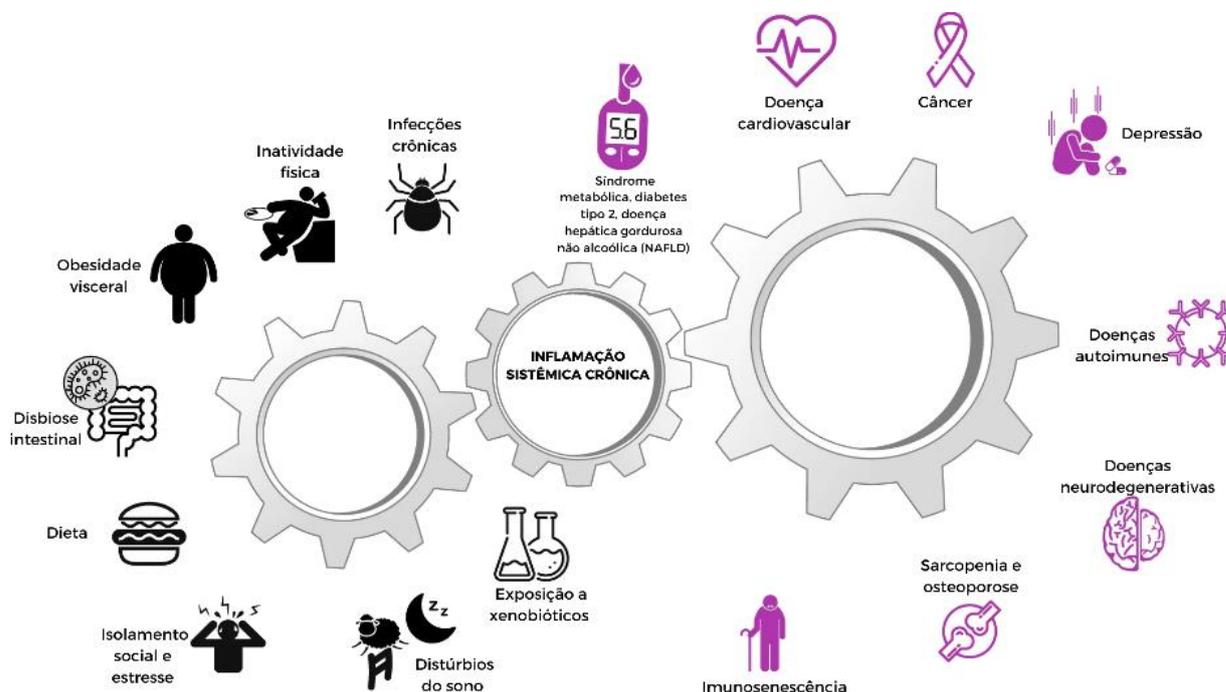
A patogênese das DCNTs está diretamente relacionada com a presença de um quadro inflamatório sistêmico crônico e de baixo grau (FURMAN *et al.*, 2019; VOLP *et al.*, 2008), que gera no organismo um aumento das citocinas pró-inflamatórias em relação as anti-inflamatórias por um longo período (MAHAN; RAYMOND, 2018). A inflamação sistêmica crônica e de baixo grau pode ser definida como:

Uma elevação de 2 a 3 vezes da concentração de mediadores inflamatórios circulantes, geralmente associados ao braço inato do sistema imune. É um estado que se desenvolve de forma lenta e sua origem não pode ser identificada com facilidade. Isso dificulta o desenvolvimento de estratégias terapêuticas adequadas direcionadas à causa e ao sintoma de forma coordenada (CALÇADA *et al.*, 2014).

Dessa maneira, quando há um estado de inflamação sistêmico crônico e de baixo grau, há a liberação dos mediadores inflamatórios por meio da ativação a longo prazo do sistema imune, podendo assim, causar lesões ao organismo, e posteriormente levar ao surgimento das DCNTs, estando relacionado e associado também à presença do estresse oxidativo, disfunção endotelial, mobilização de

gorduras e resistência insulínica (GERALDO; ALFENAS, 2008). Cabe ressaltar que, essa ativação do sistema imune a longo prazo leva a uma desregulação da resposta inflamatória e as células imunológicas deixam de assumir características autolimitada (ZHONG; SHI, 2019). A figura 2 mostra as principais causas e consequências do estado inflamatório crônico e de baixo grau e o aparecimento das DCNTs.

Figura 2: Causas e consequências da inflamação sistêmica crônica de baixo grau.



Fonte: Adaptado de FURMAN *et al.*, (2019).

Apesar da existência de uma relação entre as doenças crônicas e a inflamação sistêmica crônica de baixo grau, ainda é pouco elucidado questões associadas à sua causalidade e ao grau no qual a inflamação pode atuar e favorecer como um fator de risco para o surgimento e desenvolvimento das DCNTs (MINIHANE *et al.*, 2015). De modo geral, sabe-se que o mecanismo envolvido está relacionado com a liberação dos genes pró-inflamatórios de forma constante e por muito tempo. Estudos mostram que níveis elevados de IL-6, TNF e IL-1 β , citocinas pró inflamatórias, foram encontrados em órgãos como músculo, cérebro, tecido adiposo, coração e fígado em modelos humanos e animais que apresentavam

DCNTs, e que os níveis elevados desses mediadores inflamatórios estariam relacionados de forma positiva para a gravidade dessas doenças (PEÑA-OYARZUN, *et al.*, 2018; WANG; NAKAYAMA, 2010).

Nesse sentido, na literatura é possível encontrar os mecanismos envolvidos entre o estado inflamatório de baixo grau em relação a algumas doenças crônicas. Um exemplo é o câncer, que é considerado uma das patologias que mais se relaciona ao estado inflamatório crônico, cerca de 15% dos casos são ocasionados pela inflamação e infecção crônica. Já é bem estabelecido que o NF- κ B está ativado em diversos tipos de cânceres, como o câncer de pâncreas, mama, fígado e pulmão. Sabendo que o NF- κ B é um importante fator de transcrição de genes pró-inflamatórios, a sua ativação leva a uma liberação de TNF, IL-1, IL-6, quimiocinas, VEGF e COX-2, que atuam na proliferação de células cancerosas devido a inflamação gerada, angiogênese, metástase e cessação da apoptose (KUNNUMAKKARA, *et al.*, 2018).

Vale destacar também a relação entre a inflamação e obesidade, que já é bem elucidada na literatura. A obesidade é uma definição do estado inflamatório de baixo grau, condição ocasionada pela associação das adipocinas com a quantidade de tecido adiposo produzido pelo organismo, o que provoca o aumento dos níveis de citocinas que circulam no organismo desses indivíduos obesos (ZAGO *et al.*, 2013).

Ao comparar um tecido adiposo de um indivíduo obeso com a de um indivíduo magro, é possível observar que em indivíduos obesos há uma maior expressão de genes como o TNF e IL-6 (WANG; NAKAYAMA, 2010). O mecanismo envolvido entre a obesidade e inflamação pode ser resumido de forma que, inicialmente, conforme o indivíduo torna-se obeso, acontece um acúmulo de macrófagos no tecido adiposo, que gera uma inflamação local, com acúmulo de macrófagos e genes pró-inflamatórios, que pode ser a causa inicial de inúmeras disfunções metabólicas que cursam junto com a obesidade (WANG; NAKAYAMA, 2010).

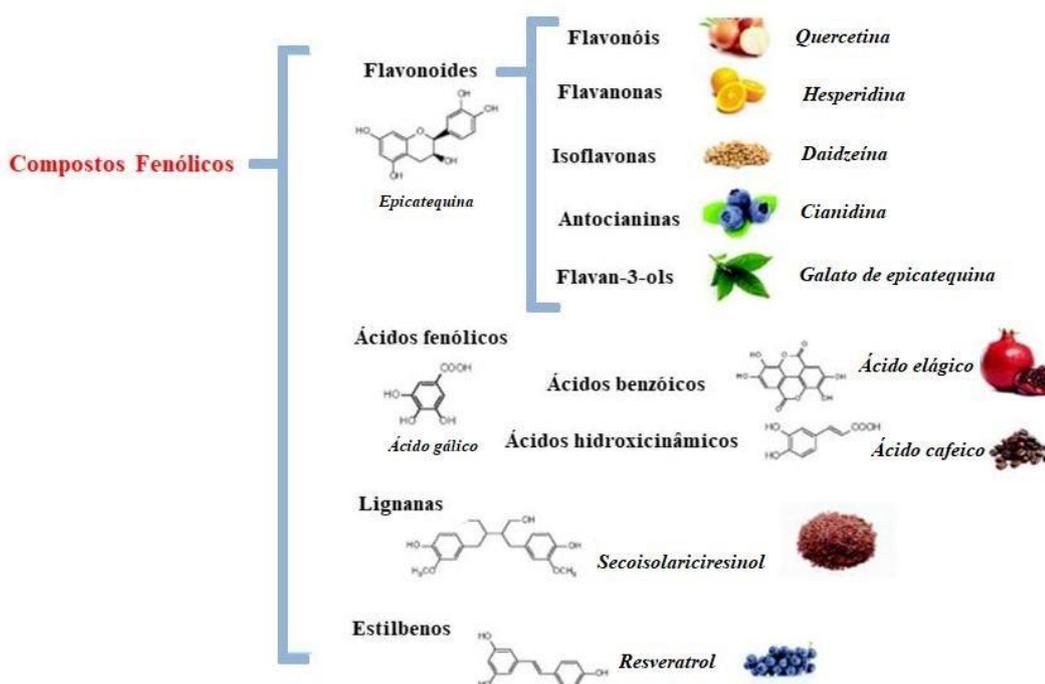
Ante o exposto, é de suma importância estudos que buscam avaliar e identificar a influência da inflamação sistêmica crônica e de baixo grau e conseqüentemente a liberação dos mediadores inflamatórios como possíveis responsáveis para o surgimento das DCNTs, a fim de compreender a dimensão desta influência, as causas e propor medidas de prevenção e/ou tratamento.

2.3 POLIFENÓIS E SUA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA

Os compostos fenólicos, também denominados polifenóis, fazem parte de um grupo de metabólitos secundários das plantas que proporcionam defesa contra os fatores agressores. Os polifenóis presentes nas plantas possuem origem comum, sendo derivados do ácido chiquímico, precursor da fenilalanina, como também da própria fenilalanina. A classificação desses polifenóis segue alguns critérios, como o número de anéis fenol existentes em sua estrutura e quais elementos estão ligados a esses anéis. Segundo a literatura, as principais classes de polifenóis são: os flavonoides, os ácidos fenólicos, as ligninas e os estilbenos (MANACH *et al.*, 2004).

O grupo mais estudado dos polifenóis são os flavonoides, sendo esses subdivididos em flavan-3-ols, flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas e antocianinas (FRAGA *et al.*, 2019). Os flavonóides possuem estrutura química composta por quinze átomos de carbono em seus núcleos básicos e dois anéis de seis membros ligados a uma unidade com três carbonos (TAPAS; SAKARKAR; KAKDE, 2008). Na figura 3 está representado as principais classes dos compostos fenólicos, incluindo os flavonoides.

Figura 3: Principais classes dos compostos fenólicos.



Fonte: Adaptado de FRAGA *et al.*, 2019.

As frutas e vegetais possuem além de minerais, vitaminas e fibras, apresentam compostos como os carotenoides, polifenóis e os fitosteróis, que estão relacionados com a promoção da saúde devido aos seus efeitos benéficos ao organismo. A classe de fitoquímicos que merece um destaque especial são os polifenóis, pois, no que se refere às DCNTs, eles apresentam importantes efeitos benéficos (FRAGA *et al.*, 2019).

No que se refere ao efeito anti-inflamatório, os polifenóis podem ser capazes de reduzir os níveis de citocinas pró-inflamatórias, como também atuar favorecendo à um quadro de equilíbrio da produção das citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. A quercetina e catequinas podem aumentar estimular a produção de IL-10 que é uma citocina anti-inflamatória, ao passo que inibe a produção de TNF e IL-1 β , que são citocinas pró-inflamatórias (YAHFOUFI, 2018).

Os compostos fenólicos podem atuar em vias de sinalização inflamatórias como a via do NF- κ B. Alguns polifenóis, como por exemplo a quercetina, podem apresentar efeito de inibição do complexo IKK (complexo I κ B quinase), assim, não permitindo a translocação do fator para o núcleo, devido ao bloqueio das subunidades p50 e p65, dessa forma, evitando que o NF- κ B ligue-se ao DNA no núcleo celular e ative a expressão de genes do processo inflamatório (YAHFOUFI *et al.*, 2018). Os polifenóis também podem exercer seu efeito no controle da inflamação ao exercer sua ação antioxidante (ZHANG *et al.*, 2016).

Como exemplo de frutas ricas em compostos fenólicos, destacam-se o guaraná e a jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg), que são frutas nativas do Brasil. Em estudos recentes realizados por Rodrigues *et al.* (2021) a fim de analisar o efeito modulatório do extrato rico em compostos fenólicos da jaboticaba no processo inflamatório intestinal, foram realizados experimentos com 30 camundongos machos que foram induzidos a obesidade a partir de uma dieta rica em gorduras e açúcares, em seguida receberam o extrato rico em compostos fenólicos da jaboticaba em duas doses, 50mg equivalente de ácido gálico (EAG) / kg de peso corporal (grupo 1, n=10), 100 mg de EAG / kg de peso corporal (grupo 2, n=10) ou água (grupo HFS, n=10), eles receberam os extratos ou água por gavagem oral durante 14 semanas. Como resultados, obtiveram que os grupos que receberam o extrato de jaboticaba apresentaram uma redução do peso corporal e adiposidade, como também foi identificado uma proteção contra a dislipidemia e resistência à

insulina, ademais, foi possível observar uma prevenção de endotoxemia metabólica, relacionada a diminuição da inflamação intestinal através da regulação negativa de mediadores pró-inflamatórios, como por exemplo o TNF (RODRIGUES *et al.*, 2021).

Outra fruta nativa do Brasil, é o caju (*Anacardium occidentale L.*), também rica em polifenóis. Em estudo realizado por Vasconcelos (2011), com o propósito de avaliar a atividade anti-inflamatória de sucos de caju, sendo esses sucos realizados com o fruto maduro e com o fruto verde. Foi utilizado um modelo experimental de edema de orelha por xileno em camundongos, e os tratamentos com os sucos do caju foram realizados durante trinta dias consecutivos, além dos grupos tratados com os sucos do caju, foram adicionados mais dois grupos, um tratado com água e outro com Dexametasona (DEXA). Como resultados obtiveram que o grupo tratado com o suco verde de caju e o grupo tratado com DEXA apresentaram menores medidas do edema, com $19,0 \pm 7,15$ mm e $14,4 \pm 6,9$ mm respectivamente, assim evidenciando uma possível atividade anti-inflamatória do suco de caju verde (VASCONCELOS, 2011). Em outro estudo com o caju mais recente, foi observado que o extrato da folha de caju é capaz de inibir a liberação de citocinas inflamatórias, como o TNF e IL-1 β em macrófagos que estimulados com LPS (SOUZA *et al.*, 2017).

2.4 GUARANÁ (*paullinia cupana* VAR. *sorbilis* (MART.) DUCKE)

O guaranazeiro é uma planta nativa da Amazônia pertencente à família das sapindáceas e são comumente encontradas nas regiões entre os rios Amazonas, Maués, Paraná do Ramos e Negro (situado no estado do Amazonas), encontra-se também na bacia do Rio Orinoco, na Venezuela. Seu nome científico é *Paullina cupana* e no Brasil se encontra a variedade *sorbilis* (Martius) Duke, enquanto na Amazônia venezuelana e colombiana encontram-se poucas quantidades da variedade cupana (SUFRAMA, 2003).

No que se refere as suas características botânicas, o guaranazeiro é um arbusto semiereto e lenhoso. Nas florestas em que é nativo, o guaranazeiro cresce se apoiando em outras árvores e sua altura pode chegar a até 10 metros. Em relação ao fruto, ele possui característica de cápsula, na qual cada cápsula possui uma

semente, e quando o fruto se encontra maduro sua coloração se transforma em vermelho ou amarelo. Após o rompimento da casca a semente aparece e junto a ela surge o *arilo*, uma substância de coloração branca que envolve a semente, que possui forma arredondada de cor preta e brilhante, sendo essa a principal parte da planta comercializada (SEBRAE, 2012; SUFRAMA, 2003). O nome do fruto é de origem indígena que vem do termo uaranã, cujo significado é olho de gente, devido à semelhança do fruto maduro com um olho humano. A característica do fruto com uma semente escura e revestimento vermelho é uma identificação marcante do guaraná (ERICKSON; CORRÊA; ESCOBAR, 1984). A figura 3 representa o fruto do guaranazeiro maduro.

Figura 4: Fruto do guaranazeiro maduro.



Fonte: Embrapa, 2015.

Esse fruto também é conhecido por guaraná-da-Amazônia, guaranaina, guaraná, uarana ou narana, possui notório potencial estimulante e propriedades medicinais. É utilizado há séculos pela comunidade indígena da Amazônia, o primeiro relato da utilização do guaraná foi na época das expedições missionárias jesuítas, onde o missionário João Felipe Bettendorf ao observar os índios Sateré-Mawé, pôde notar que eles consumiam uma bebida que possuía efeitos benéficos contra as dores de cabeça, febre e câimbras, como também possuía efeitos diuréticos (SHIMPL *et al.*, 2013; HENMAN, 1982).

Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB) (2019), o Brasil é praticamente o único produtor de guaraná (*Paullinia cupana*) do mundo, sendo a Bahia, Amazonas e Mato Grosso os estados com maior produção. Em uma escala menor de produção encontra-se os estados de Rondônia, Pará e Acre. Em 2014, a

produção no Brasil correspondeu a 3588 toneladas, sendo 2691 toneladas produzidas no estado da Bahia e 624 no Amazonas, correspondendo a 95% da área plantada no país (CONAB, 2019).

No ano de 2018, estima-se que a produção nacional de guaraná foi de 2,6 mil toneladas, evidenciando uma diminuição da produção em comparação com o ano de 2014. Essa redução se deu pelo fato de que a área reservada para a produção do guaraná foi reduzida (CONAB, 2019). No entanto, a fim de expandir a produção de guaraná no Brasil, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), juntamente com o Ministério da Agricultura, tem realizado ações decisivas para a expansão da produção do guaraná, por meio da realização de pesquisas e do lançamento de cultivares que, além do aumento da produtividade, favorece também cultivares resistentes a doenças (FIGUEROA, 2016).

De acordo com o Censo Agropecuário realizado pelo IBGE em 2017, existia no Brasil 6.644 estabelecimentos produtores de guaraná que continham cinquenta ou mais pés de guaranazeiros, sendo que na Bahia haviam 70,3% do total desses estabelecimentos, seguido do Amazonas com 25,6% do total dos estabelecimentos, Mato Grosso com 0,2% e 3,2% do total de estabelecimentos presentes em outros estados. Ainda de acordo com Censo Agropecuário realizado pelo IBGE em 2017, em relação ao total de produtores de guaraná, apenas 11,3% eram produtores não familiares, sendo que mais da metade (88,7%) dos produtores de guaraná eram pertencentes a agricultura familiar (IBGE, 2017). Há 40 anos, a obtenção das sementes eram realizadas principalmente de forma extrativista, sendo que os primeiros cultivos comerciais é uma prática recente (SEBRAE, 2012).

Nesse sentido, a cultura do guaraná é uma significativa fonte de emprego e de renda, sendo esse cultivo considerado de grande importância socioeconômica para a região, justamente por se tratar de uma atividade tipicamente familiar (GOUVEIA, *et al.*, 2012; IDAM, 2020). Juntamente a isso, nos municípios produtores, os agricultores familiares são beneficiados pela presença de cooperativas que fazem o intermédio da comercialização do guaraná, além de empresas integradoras que fornecem o guaraná para diversos compradores, como as indústrias farmacêuticas (CONAB, 2019).

Os produtos obtidos exclusivamente de sementes do guaraná, são comercializados predominantemente em forma de xarope, semente, bastão ou pó. O

xarope (concentrado) é utilizado para preparações de bebidas gaseificadas na indústria, como também no consumo direto misturado na água, como uma bebida energética. O bastão ou barra é ralado e assim também se obtêm o pó, que pode ser acondicionado em cápsulas gelatinosas ou em sachês (SEBRAE, 2012; SUFRAMA, 2003). Os refrigerantes a base de guaraná possuem uma expressiva aceitação pelo mercado internacional e nacional, contudo, a mudança industrial do guaraná e a difusão de produtos como o guaraná em pó, xarope, bastão e o artesanato estão demonstrando um aumento do interesse mercadológico internacional e nacional (SEBRAE, 2012).

A parte do guaraná que é mais comercializada, são as sementes secas devido ao seu significativo teor de cafeína, que é um composto bioativo do guaraná amplamente responsável por sua característica estimulante (MACHADO *et al.*, 2018). A partir das sementes secas é produzido o guaraná em pó, sendo essa a forma comercial mais consumida (SILVA *et al.*, 2017). De acordo com a Portaria n. 70, de 16 de março de 1982, o guaraná em pó é classificado como “o produto obtido da amêndoa finamente triturada, moída ou pilada”. Nessa portaria também é estabelecida as características relacionadas a qualidade do guaraná, como também sua apresentação, embalagem, armazenamento e seu transporte para intuito de comercialização (BRASIL, 1982).

Para que o guaraná chegue a sua forma final, seja xarope, semente, bastão ou pó, após a colheita acontece o seu beneficiamento, sendo essa uma etapa importante. Primeiramente, os cachos de guaraná são colhidos e armazenados em galpões por dois ou três dias, nessa fase acontece a fermentação, fazendo com que a casca do fruto fique amolecida, facilitando o seu posterior despulpamento. Em seguida acontece o despulpamento do fruto, no qual acontece a separação das sementes da casca e do arilo. Após essa fase é realizado a peneiragem e lavagem para que, caso reste alguma casca ou arilo, eles sejam retirados. Segue-se então secagem das sementes por 10 a 12 horas ao sol, para que, por fim, aconteça a torrefação das sementes em fornos de chapa e em seguida sua classificação e seleção, a separação é realizada de acordo com o seu tamanho e coloração (SUFRAMA, 2003).

Em relação a composição centesimal do guaraná em pó de uso comercial, em análises recentes realizadas por Oliveira (2021), foi identificado que em 100g de

guaraná em pó foram encontradas $7,66 \pm 0,02\%$ de umidade, $12,67 \pm 0,41$ g de proteínas, $2,83 \pm 0,03$ g de lipídeos, $31,25$ g de carboidratos, $43,10$ g de fibras totais e $2,48 \pm 0,05$ g de cinzas totais. Assim, a partir desses dados, é possível chegar à conclusão que o guaraná em pó de uso comercial é um produto considerado uma boa fonte de fibras, e que o seu baixo teor de umidade juntamente com o seu pH tendendo a acidez são características importantes para o armazenamento e sua vida de prateleira (OLIVEIRA, 2021).

Quanto a sua composição química, o guaraná apresenta compostos de cafeína, teofilina e a teobromina. A teofilina e teobromina são encontradas nas cascas, flores e folhas da *Paullinia cupana* e estão ausentes na semente. Os polifenóis também estão presentes, como os taninos e flavonoides, que são substâncias que possuem efeito antioxidante (LEITE *et al.*, 2011). Há também presentes no guaraná derivados de metilxantinas como a cafeína, conhecida por proporcionar estímulos ao sistema nervoso central, os polifenóis constituem a classe mais numerosa de fitoquímicos nas sementes de guaraná entre os quais predominam as catequinas, epicatequinas e proantocianidinas, sendo elas os compostos mais abundantes (MACHADO *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2017; YONEKURA *et al.*, 2016).

Muitas são as propriedades benéficas do guaraná ao organismo, ele possui altas quantidades de cafeína, que estimula o metabolismo, agindo assim como um agente ergogênico, podendo influenciar na termogênese, na degradação de lipídeos, e na prevenção da aterosclerose. Esses efeitos positivos podem contribuir para que haja uma diminuição dos fatores de risco para doenças cardiovasculares (RUCHEL *et al.*, 2016). Haskell *et al.* (2007) avaliaram os efeitos de baixas doses de guaraná em humanos, que resultaram em melhora no desempenho da memória e efeitos cognitivos.

Em relação aos seus possíveis efeitos tóxicos, na literatura há pouca informação sobre quais efeitos seriam observados. Sabe-se que, de uma maneira geral, a toxicidade do fruto relaciona-se a insônia e agitação e que esses efeitos se dão geralmente devido a ingestão de altas doses do guaraná (CANICEIRO, 2012; ANTONELLI-USHIROBIRA *et al.*, 2010). Cabe ressaltar que ao realizar uma extensa busca de artigos na literatura científica pode-se observar que os efeitos biológicos do guaraná, com exceção da atividade estimulante, são pouco explorados.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade anti-inflamatória *in vitro* do guaraná em pó de uso comercial (*Paullinia cupana*).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar o teor de polifenóis totais no extrato aquoso do guaraná em pó;
- ✓ Realizar a ensaio de viabilidade celular em células do tipo RAW 264.7 tratadas com o extrato aquoso do guaraná em pó em diferentes concentrações;
- ✓ Determinar a produção de mediadores inflamatórios no sobrenadante de células do tipo RAW 264.7 após indução da inflamação com LPS e submetidas ao tratamento com extrato aquoso do guaraná em pó em diferentes concentrações.

4. METODOLOGIA

4.1 OBTENÇÃO DA AMOSTRA

O guaraná em pó (*Paullinia cupana*) foi adquirido em lojas especializadas em vendas de produtos naturais da cidade de Ouro Preto, Minas Gerais. A quantidade necessária para o experimento foi adquirida em uma única remessa a fim de garantir a homogeneidade da amostra em todos os experimentos. Para realizar este estudo, o guaraná em pó utilizado foi cadastrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado - SISGEN de número A933339 (Anexo 1).

4.2 MATERIAL E REAGENTES UTILIZADOS

As células de macrófagos RAW 264.7 foram cedidas pela professora Juliana Alves Macedo, da Universidade Estadual de Campinas. Os reagentes *Folin-Ciocalteu*, ácido gálico, meio de cultura RPMI1640 1 e (4,5- dimetilazol- 2- il) - 3,5- difenilformazan (MTT) foram adquiridos da empresa *Sigma-Aldrich®*. O Lipopolissacarídeo (LPS) e o soro fetal bovino da *Thermo Fisher Scientific* (Waltham, Ma).

4.3 PREPARO DO EXTRATO AQUOSO

O extrato aquoso do guaraná foi preparado para ser utilizado nas análises do teor de polifenóis totais, para o ensaio de viabilidade celular e para produção dos mediadores inflamatórios, NO• e TNF. Para o preparo do extrato aquoso do guaraná em pó foi utilizando a metodologia proposta pela Embrapa (2007).

Foi pesado 100 mg de guaraná em pó dentro de um béquer em uma balança analítica calibrada, em seguida foram adicionados 10 mL de água destilada. A mistura foi levada ao agitador magnético por 30 min. Logo após, a mistura foi transferida para tubos do tipo *falcon* e posteriormente centrifugadas por 15 min a 10.000 x g. Após a centrifugação, os sobrenadantes foram removidos com auxílio de uma micropipeta automática e transferidos para um balão volumétrico de 10mL, em seguida foi adicionado água destilada para completar o volume do balão volumétrico. Em seguida, o extrato obtido foi aliqotado em microtubos de polipropileno de cor âmbar, identificado e levado para armazenamento em freezer-20° C até sua utilização (EMBRAPA, 2007).

4.4 QUANTIFICAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

Para a determinação do conteúdo de polifenóis totais presente no extrato aquoso do guaraná em pó foi utilizado método colorimétrico empregando o reagente *Folin-Ciocalteu* (OBANDA; OWUOR, 1997). O reagente de *Folin-Ciocalteu* é uma mistura dos ácidos fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que em um meio alcalino é capaz de oxidar compostos fenólicos. Esses ácidos reduzidos levando a produção de óxidos azuis de tungsteno (W_8O_{23}) e molibdênio (Mo_8O_{23}) que absorvem a cor no comprimento de onda de 760 nm. O resultado do teor de polifenóis totais foi expresso como mg de equivalente de ácido gálico (EAG) (GEORGÉ *et al*, 2005).

Preparo das soluções

Inicialmente, foi realizado o preparo das soluções necessárias para a análise. Primeiramente foi preparado uma solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 7,5% m/v. Para isso, em uma balança analítica calibrada foi realizado a pesagem de 7,5 gramas de carbonato de sódio, que foi diluído em água destilada e transferido para um balão volumétrico de 100 mL aferindo-se o menisco. Essa solução foi homogeneizada e armazenada em temperatura ambiente.

Em seguida, foi preparado uma solução de ácido gálico (200mg/L), chamada de solução mãe ou solução estoque, essa última denominação é devido ao seu prazo de validade de um mês desde que seja armazenada corretamente na geladeira. Para a preparação dessa solução foi pesado em uma balança analítica calibrada, 0,02 g de ácido gálico e dissolvido em 20 mL de água destilada. Feito isso, essa solução foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e completado o seu volume com água destilada até o menisco. A solução foi homogeneizada e armazenada em um frasco âmbar. A partir da diluição em água destilada dessa solução, ela foi destinada para a construção da curva padrão, a fim de obter as concentrações de 5,0 mg/L, 15,0 mg/L, 25,0 mg/L, 50,0 mg/L, 75,0 mg/L e 100,0 mg/L.

A última solução a ser preparada foi a solução de *Folin-Ciocalteau* (1:10 v/v), o preparo desta solução foi realizado apenas no momento da análise após a construção da curva padrão. Para o preparo dessa solução, foi pipetado 5 mL do reagente *Folin-Ciocalteau* em um balão volumétrico de 50 mL e o volume total foi completado com água destilada. A solução foi homogeneizada, identificada e envolvida por papel alumínio e armazenada em local com ausência de luz.

Procedimento de dosagem

Foram utilizados 7 balões volumétricos de 10 mL e foi adicionado os volumes da solução padrão de ácido gálico e de água destilada de acordo com os valores da tabela 2. Em seguida, foi pipetado 0,5mL de cada uma das soluções preparadas em tubos do tipo *falcon*, e adicionado a cada um deles 3 mL da solução do reagente *Folin-Ciocalteau* a 10%, foi homogeneizada e mantida em repouso por 3 minutos. Feito isso, foi adicionado 2,5mL da solução de Na₂CO₃ a 7,5%, foi homogeneizada e os tubos ficaram em repouso por uma hora na ausência de luz. Ao passar esse tempo foi realizada a leitura em um espectrofotômetro UV- Vis no comprimento de onda de 750 nm para a obtenção dos valores de absorbância.

Tabela 2: Concentrações das soluções de ácido gálico para a construção da curva padrão.

Volume de solução padrão de ácido gálico 200mg/L (mL)	Volume de água destilada (mL)	Concentração (mg/L)
0	10	0
0,25	9,75	5
0,75	9,25	15
1,25	8,75	25
2,5	7,5	50
2,75	6,25	75
5,0	5,0	100

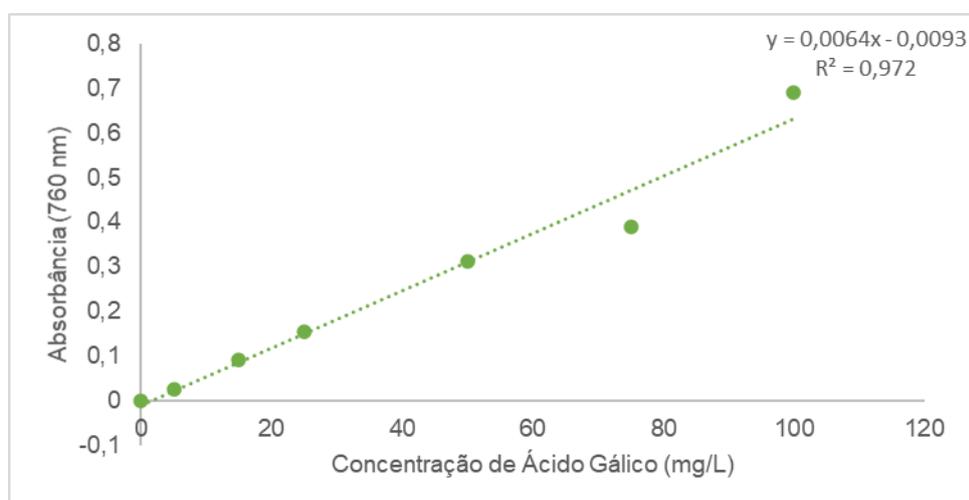
Fonte: Obanda e Owuor (1997).

O extrato aquoso do guaraná em pó foi diluído na proporção de 5,10 e 12 vezes, em triplicata. Em seguida, foi pipetado 0,5mL referente a cada uma das diluições do extrato do guaraná em pó em tubos do tipo *falcon* e adicionado 2,5 mL da solução *Folin-Ciocalteu* a 10%, em seguida, foi homogeneizado e deixado em repouso por 3 minutos. Após esse tempo, foi adicionado 2 mL da solução Na_2CO_3 a 7,5% em cada tubo, em seguida, foi homogeneizado e as amostras foram mantidas em repouso por uma hora. Para o preparo do branco, no lugar da amostra foi utilizado a água destilada (0,5mL). Após uma hora foi realizada a leitura das amostras no espectrofotômetro de placa UV- Vis, no comprimento de onda de 760 nm para se obter os valores de absorbância.

Cálculo dos resultados

Foi construído um gráfico com os valores de absorbância e concentração da curva padrão e após uma análise de regressão linear foi obtido a equação da reta (Figura 5) que possibilitou o cálculo da concentração de polifenóis totais na amostra analisada. Os resultados da concentração de polifenóis totais foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico por 100 g de guaraná em pó (mg EAG/100g).

Figura 5: Curva padrão de ácido gálico.



4.5 CULTURA DE CÉLULAS E ENSAIO DA PRODUÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

4.5.1 Cultivo das células

Para o ensaio de viabilidade celular e produção de mediadores inflamatórios foi utilizado um modelo de cultura de células da linhagem de macrófagos de murinos do tipo RAW 264.7. As células RAW 264.7 foram cultivadas em meio RPMI-1640 completo, suplementado com penicilina e 10% de soro fetal bovino a 37 °C em 5% de CO₂ /95% de ar.

4.5.2 Ensaio de viabilidade celular

Para análise da viabilidade celular, foi utilizado o método de brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il) -2,5-difeniltetrazólio (MTT) (MOSMANN, 1983). O MTT consiste em um sal de tetrazólio amarelo, solúvel em água. Nas mitocôndrias o anel

é reduzido, formando cristais de formazan de coloração roxa que são insolúveis em água.

Em placa de 96 poços, as células foram adicionadas na concentração $1,0 \times 10^5$ por poço. Após incubação de 24 h a 37 °C em 5% de CO₂ 95% de ar, o sobrenadante foi retirado e em seguida foi adicionado 100 µL de amostra previamente diluída em meio RPMI-1640 completo em concentrações variando de 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/mL do extrato aquoso do guaraná em pó e adicionado 10 µL de MTT por poço. A placa foi novamente incubada por 4 h a 37 °C. Após a remoção do sobrenadante foi adicionado 100 µL de dimetilsulfóxido em cada poço. A leitura de absorbância foi realizada no comprimento de onda de 540 nm em leitor de placas SpectraMax 340PC (Marshall Scientific, Hampton, NH) (SILVA, 2016). O resultado foi expresso em porcentagem de células viáveis em comparação ao controle (células cultivadas em meio completo sem amostra), adotando 80% de viabilidade como ponto de corte.

4.5.3 Produção de mediadores inflamatórios

Os macrófagos foram semeados na concentração de 4×10^5 células por poço em placas de cultura celular de 24 poços. Após 24h de incubação a 37 °C em 5% de CO₂/95% de ar, os sobrenadantes foram removidos e as células receberam meio adicionado de amostra do extrato aquoso de guaraná nas concentrações de 0,5; 1,0; 1,5 mg/mL, e após 1 hora, o estímulo inflamatório foi realizado com a adição do LPS na concentração de 1 µg/mL e a placa permaneceu incubada por 24 horas (SILVA, 2016). Para controle, as células foram cultivadas em meio de cultura, sem adição de extrato ou estímulo inflamatório; em meio de cultura com adição dos extratos aquosos (0,5, 1,0 e 1,5 mg/mL) e sem estímulo inflamatório; e em meio de cultura sem adição de extrato e com adição do estímulo inflamatório. O experimento foi realizado em quadriplicata. Os sobrenadantes foram removidos e armazenados a -80°C para posterior determinação de marcadores inflamatórios.

4.5.4 Determinação da produção de óxido nítrico

Para avaliar um possível efeito do extrato aquoso do guaraná em pó de uso comercial na produção de NO• por células em cultura, foi utilizado as concentrações 0,5; 1; e 1,5 mg/mL do extrato aquoso.

A medida da liberação de NO• foi realizada pela determinação da concentração de nitrito no sobrenadante por meio da reação de Griess (sulfanilamida 1%, ácido fosfórico 2,5% e nafiletilediamina 0,1%). Em placa de 96 poços foram adicionados 50 µl de amostra e 50 µl de reagente de Griess (1% de sulfanilamida em 5% de H₃PO₄ e 0,1% de N-1-(naftil) etilenodiamina em ácido fosfórico. Em seguida, a leitura de absorbância foi realizada no comprimento de onda de 540 nm em leitor de microplacas SpectraMax 340PC (Marshall Scientific, Hampton, NH) (SILVA, 2016). Foi realizado uma curva padrão de nitrito de sódio nas concentrações de 320, 160, 80, 40, 20, 10, 5 µM. Os resultados foram expressos em concentração de µM de nitrito/1,5 x 10⁶ células.

5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados pelo programa *Graphpad Prism 6* (*GraphPad Software*, San Diego, CA). Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de *D'Agostino-Pearson*. A diferença estatística foi avaliada por *oneway* ANOVA seguida de teste de *Bonferroni*. O valor de p foi fixado em 5% ($p < 0,05$), com o intuito de obter uma confiabilidade de 95% entre as comparações. Os dados paramétricos foram apresentados em média \pm desvio padrão e os não paramétricos e mediana e intervalo interquartil.

6. RESULTADOS

6.1 CONCENTRAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

Na tabela 3 encontra-se o resultado na análise da concentração de polifenóis totais do guaraná em pó de uso comercial, o resultado obtido foi de $1766,67 \pm 126,87$ mg EAG**/ 100 g guaraná em pó.

Tabela 3: Quantidade de polifenóis totais presentes no guaraná em pó de uso comercial*.

Polifenóis Totais	
Guaraná em pó	$1766,67 \pm 126,87$ mg EAG**/ 100 g guaraná em pó

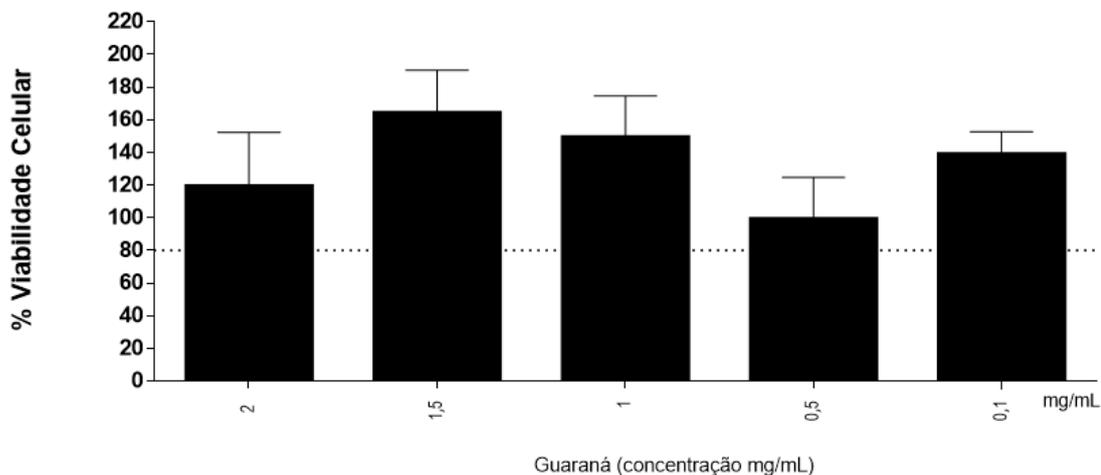
*Dados expressos em média \pm desvio padrão

** Equivalentes de Ácido Gálico

6.2 VIABILIDADE CELULAR

Foi utilizado as concentrações de 2mg/mL, 1,5mg/mL, 1 mg/mL, 0,5mg/mL, e 0,1mg/mL do extrato aquoso do guaraná para a realização do ensaio de viabilidade celular. Segundo a literatura, quando se utiliza o ensaio de MTT os resultados considerados viáveis, ou seja, as células permaneceram vivas, são os que apresentaram valores acima de 80% e até 140%. Na figura 6 é possível observar que em todas as concentrações do extrato aquoso de guaraná utilizadas obtiveram resultados igual ou maior que 80% de viabilidade. A partir desse resultado foi escolhido as concentrações de 0,5; 1,0; e 1,5 mg/mL para as próximas análises.

Figura 6: Análise da viabilidade celular em células do tipo RAW 264.7, submetidas ao tratamento com diferentes concentrações do extrato aquoso do guaraná em pó.



Os resultados são representados pela média \pm desvio padrão.

6.3 PRODUÇÃO DE MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

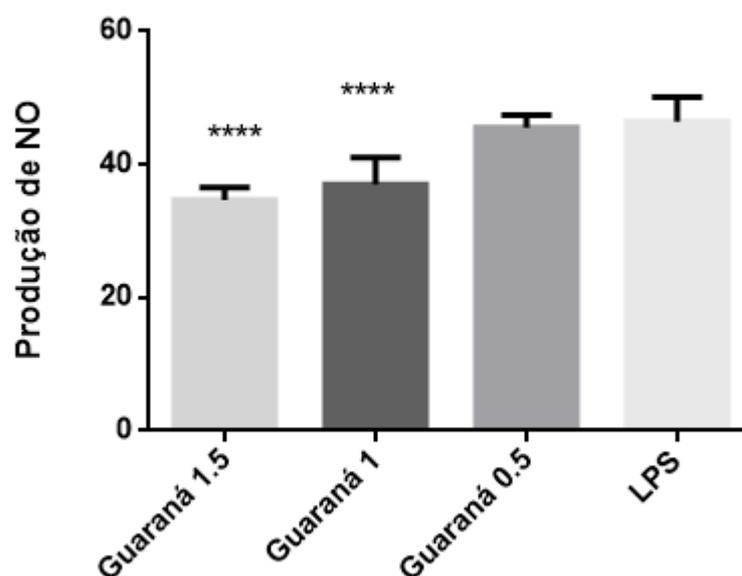
6.3.1 Determinação da produção de óxido nítrico

A medida da produção de $\text{NO}\cdot$ foi realizada pela determinação da concentração de nitrito no sobrenadante celular, após o estímulo com LPS, por meio da reação de Griess (sulfanilamida 1%, ácido fosfórico 2,5% e nafiletlenodiamina 0,1%). Os resultados obtidos estão demonstrados na figura 7.

As células que foram estimuladas com LPS e em seguida tratadas com o extrato aquoso de guaraná. No extrato aquoso de guaraná em pó na concentração de 0,5 mg/mL não foi encontrado diferença estatística para a produção do mediador óxido nítrico em relação à célula controles. Na concentração 1,0 mg/mL apresentou uma produção desse mediador inflamatório $\text{NO}\cdot$ estatisticamente menor ($p < 0,0001$) em relação à produção pelas células controles (apenas estimuladas com LPS), essa redução foi de 20%, em relação a concentração de 1,5mg/mL do extrato aquoso de guaraná também foi observado uma produção estatisticamente menor ($p < 0,0001$)

desse mediador inflamatório em relação à produção pelas células controles (inflamadas), essa redução foi de 25%.

Figura 7: Produção de óxido nítrico nos sobrenadantes de células do tipo RAW 264.7 após a indução da inflamação com lipolissacarídeo (LPS) e em seguidas tratadas ou não com diferentes concentrações do extrato aquoso do guaraná em pó.



Os resultados são expressos pela média \pm desvio padrão de dois experimentos distintos. Os resultados foram analisados por one-way ANOVA, acompanhadas pelo pós-teste de Bonferroni. A barra LPS, são as células inflamadas (controle).

7. DISCUSSÃO

No presente estudo foi encontrado uma concentração de polifenóis totais no extrato aquoso do guaraná em pó de $1766,67 \pm 126,87$ mg EAG**/ 100 g, de acordo com a literatura é possível realizar a classificação de frutas em base seca para o conteúdo de polifenóis totais. Vasco, Ruales e Kamal-eldin (2008), em seu estudo avaliando o teor de polifenóis de 17 frutas do Equador utilizando o reagente *Folin-Ciocalteu*, categorizou o conteúdo de polifenóis totais em três categorias, <1000 mg GAE / 100 g sendo classificado em baixo conteúdo, 1000-5000 mg EAG / 100 g em médio e > 5000 mg EAG / 100 g como contendo alto conteúdo de polifenóis totais, sendo assim, o guaraná em pó estudado pode ser classificado como um fruto que apresenta médio conteúdo de polifenóis totais.

Majhenic, Skerget e Knez (2007), avaliaram o extrato do guaraná em pó utilizando diversos tipos de solventes, como a água destilada, o metanol, acetona a 35% e etanol a 60%. A análise da concentração de polifenóis totais no extrato aquoso do guaraná revelou um valor de 18.100 mg EAG/ 100 g de polifenóis totais, de acordo com a classificação proposta por Vasco, Ruales e Kamal-eldin (2008), esse resultado é considerado como alto conteúdo de polifenóis totais, o que podemos observar ser um resultado superior ao encontrado no presente estudo.

Antunes (2011) avaliou os teores de polifenóis totais extraíveis e não-extraíveis do guaraná, em suas frações em base seca, avaliando a casca, polpa, semente e o pó comercial, os resultados encontrados foram $9.785 \pm 7,58$ mg EAG / 100g, $1.381 \pm 1,16$ mg EAG / 100g, $9.268 \pm 8,12$ mg EAG / 100g e $13.736 \pm 8,28$ mg EAG / 100g respectivamente. Ao relacionar esse resultado com o obtido para o guaraná em pó analisado, é possível notar que o dado obtido por Antunes (2011) também é superior, ainda, utilizando a classificação de Vasco, Ruales e Kamal-eldin (2008), esse resultado é considerado como alto conteúdo de polifenóis totais.

Ainda em relação a estudos que avaliaram os teores de polifenóis totais, Martins (2010) avaliou o guaraná em pó utilizando quatro tipos de solventes para a produção do extrato, dentre eles a água destilada, acetona 35%, metanol e etanol 60% e foram utilizados dois métodos distintos, um proposto por Majhenic, Skerget e Knez (2007), que foram utilizados 3 gramas de guaraná em pó e 50mL de solvente, em seguida esse conteúdo permanecia por 2 horas em agitador magnético, em

seguida, era filtrado em papel filtro com auxílio de uma bomba a vácuo, e o volume final ajustado para 50mL. O método proposto por Nuutila *et al.* (2003) foi utilizado a mesma quantidade de amostra, mas foi utilizado 20mL de solvente, esse conteúdo foi agitado por 1 hora em agitador magnético e ultrassonificada por 20 minutos e em seguida foi filtrado em papel filtro, com o conteúdo que ficou retido no papel filtro foi realizado uma nova extração e os sobrenadantes das duas fases foram acondicionados em um mesmo balão volumétrico de 50mL. Em relação aos resultados obtidos pela autora utilizando a água destilada como solvente, no método 1 obteve-se $4.674 \pm 2,16$ mg EAG/ 100g de guaraná, e no método 2, $3.282 \pm 0,90$ mg EAG/ 100g de guaraná, é possível perceber que tanto no método 1 quanto no 2 os resultados foram superiores ao encontrado no presente estudo, porém, ao classificar o teor de polifenóis encontrado pela autora segundo a classificação proposta por Vasco, Ruales e Kamal-eldin (2008), esse resultado também é considerado como médio conteúdo de polifenóis totais.

Para a realização da análise da concentração de polifenóis totais naturalmente presentes em um alimento inicialmente é necessário a realização do extrato, para isso pode-se utilizar diversos solventes como também diferentes métodos, a escolha do solvente e do método a ser utilizado podem diferir de acordo com o objetivo pretendido (PÉREZ-JIMÉNEZ *et al.*, 2008). Optou-se pela utilização da água destilada como solvente, para não interferir nos experimentos posteriores, pois um extrato utilizando solventes a base de algum álcool poderia inviabilizar um futuro estudo *in vivo*.

Os três estudos citados anteriormente apresentaram quantidades superiores de polifenóis totais presentes no extrato do guaraná em pó avaliado. De acordo com Naczk e Shahidi (2004), os resultados da extração de polifenóis de produtos vegetais podem sofrer influência do método escolhido para a extração, como os diferentes extratos que podem ser utilizados, há também a influência da natureza química do material, como também o tamanho da amostra, condições de armazenamento e tempo, cabe ressaltar também a possível presença de substâncias que possam interferir no resultado. Vale destacar também que pode ocorrer uma superestimação da concentração de polifenóis totais, uma vez que o método colorimétrico que utiliza o reagente de *Folin-Ciocalteu*, pode sofrer interferência de compostos não fenólicos com capacidade de redução, como por

exemplo açúcares e vitamina C (OLIVEIRA, 2009). Porém, esse método ainda é considerado o mais tradicional quando se trata em quantificar teor de polifenóis totais, ele é formado pelos ácidos fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que apresentam coloração amarela, mas em contato com os polifenóis em um meio alcalino ocorre a redução desses ácidos e a formação do molibdênio azul e tungstênio azul, assim, devido a mudança de coloração é possível estabelecer a concentração desses compostos redutores, os polifenóis (LAZZAROTTO *et al.*, 2020).

No presente estudo foi realizado o ensaio de viabilidade celular utilizando o método MTT a fim de saber se o extrato aquoso do guaraná em pó de uso comercial provocaria algum tipo de citotoxicidade às células, para assim prosseguir com os futuros experimentos. Na análise foram utilizadas células da linhagem de macrófagos de murinos RAW 264.7 devido ao fato de possuírem sensibilidade a ação do LPS e por serem capazes de exibir uma ativação do receptor Toll-like (TLR4), sendo esse um receptor que nos humanos é capaz de interagir com o LPS e promover sinais inflamatórios. Segundo a literatura, ao estimular as células RAW 264.7 com LPS é possível observar e analisar os efeitos anti-inflamatórios de produtos naturais (ZHAN *et al.*, 2018).

O método MTT é considerado um meio rápido, fácil e com ampla utilização para a determinação da viabilidade celular *in vitro*, ele consiste na determinação da quantidade de células vivas após um tratamento escolhido, a partir da redução mitocondrial do sal de MTT em cristais de formazan, sendo este resultante da ação da enzima succinato-desidrogenase, a quantidade desses cristais é medida pelo espectrofotômetro e é proporcional ao número de células vivas, ou seja células viáveis (MEERLOO; KASPERS; CLOOS, 2011).

Em uma busca na literatura atual, foi possível encontrar alguns estudos que avaliaram a viabilidade celular de extratos aquosos do guaraná em pó. Um estudo realizado por Lenz (2015) que avaliou a viabilidade celular de extratos aquosos de alimentos ricos em cafeína como o café, chá verde/preto, erva-mate e guaraná utilizando o método MTT, verificou-se que não houve diferença significativa entre as células não tratadas e as tratadas com o extrato, assim, podendo chegar à conclusão de que não houve a indução de citotoxicidade pelos extratos utilizados. Resultado semelhante ao encontrado nesse estudo, pois todas as concentrações do

extrato utilizadas obtiveram valores $\geq 80\%$ de viabilidade do MTT, o que é considerado um valor adequado de viabilidade celular.

Outro estudo que avaliou a viabilidade celular de extrato aquoso de guaraná utilizando o mesmo método empregado no presente estudo foi o de Veloso (2014), em sua análise utilizou-se células de cérebro e cerebelo de seis camundongos do sexo masculino e saudáveis, o extrato do guaraná em pó foi preparado utilizando a água destilada e o álcool como solventes, com isso, a fim de buscar conhecer o efeito do tratamento com o extrato hidroalcoólico do guaraná sob a viabilidade celular das células do cérebro e cerebelo, foi realizado o ensaio do MTT. Como resultado, Veloso (2014) obteve que nos tratamentos realizados com as maiores concentrações do extrato do guaraná (100 e 300 μ g/mL), foi encontrado os maiores valores de viabilidade celular, em comparação com os nossos resultados obtidos, pode-se observar que essa relação foi a mesma, pois os maiores valores de viabilidade celular foram encontrados na concentração de 1,5 e 1mg/mL do extrato aquoso do guaraná.

A fim de buscar saber sobre os efeitos anti-inflamatórios do guaraná em pó, foi realizado a quantificação do NO•. O NO• é considerado um importante mediador inflamatório cuja produção é resultante da ativação dos macrófagos em decorrência de um estímulo pela endotoxina LPS, dessa forma, uma redução na produção de NO•, ou seja, uma diminuição dos sinais de ativação em macrófagos, têm sido foco para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas a fim de buscar novos tratamentos para doenças cuja inflamação está descrita como causa subjacente (SHIN *et al.*, 2015).

A produção de NO• é decorrente da expressão da iNOS em respostas a agentes como o TNF, LPS, IFN- γ - dentre outros, em diversas células, incluindo os macrófagos (MONCADA; HIGGS, 1993). A avaliação da produção do NO• nesse estudo, foi realizada utilizando o reagente de Griess, o NO• produzido na célula é convertido a nitrito e nitrato, com isso, a produção de NO• é medida pela quantificação do nitrito no sobrenadante das células (GREEN *et al.*, 1982).

Até o momento, não há disponível na literatura estudos que avaliaram a produção de NO• após estímulo das células pelo LPS e posteriormente o tratamento com o extrato aquoso do guaraná. Um estudo realizado por Bittencourt *et al.* (2013) a fim de saber os efeitos do extrato hidroalcoólico do guaraná (*Paullinia cupana* var.

sorbilis Mart) sobre o óxido nítrico e outros compostos gerados a partir da degradação do nitroprussiato de sódio em uma cultura de fibroblastos embrionários (células NIH-3T3), foi possível observar que o guaraná teve capacidade de exercer importante efeito sobre o metabolismo do NO•, em especial quando as concentrações do extrato do guaraná eram elevadas, o que corrobora com os resultados encontrados neste estudo, onde a utilização das concentrações mais elevadas do extrato foram capazes de promover uma redução significativa na produção do NO•.

Como exemplo de fruta rica em polifenóis e nativa do Brasil, como o guaraná, temos o açaí (*Euterpe oleracea* Mart.). Em estudos realizados por Matheus *et al.* (2006) onde avaliou a produção de NO• e expressão da iNOS em macrófagos RAW 264.7 tratados com extratos de frações do açaí, os autores obtiveram como resultado que os extratos foram capazes de promover efeitos inibitórios da expressão de iNOS e produção de NO•, esse efeito de redução dos níveis de iNOS parece estar relacionado diretamente com a ação dos extratos na via de produção de NO• (MATHEUS *et al.*, 2006).

Assim, confirmamos a importância em avaliar a produção do NO• pois já existem evidências que demonstram a redução da produção desse mediador inflamatório em células *in vitro* quando adicionado o extrato de frutas ricas em polifenóis, sendo interessante avaliar a produção de NO• em tecidos biológicos devido ao fato dele estar relacionado a diversas funções no organismo, envolvido também em algumas patologias, assim, sua avaliação poderia esclarecer o sua participação no estresse oxidativo e processos inflamatórios.

Uma importante limitação do presente estudo, que impossibilitou a confirmação do efeito anti-inflamatório do extrato aquoso do guaraná, foi a ausência da quantificação de outros mediadores inflamatórios, como por exemplo o TNF. Essa dosagem não foi realizada devido ao fato da ocorrência de problemas técnicos que inviabilizaram a realização do experimento, além disso, a pandemia do novo coronavírus e a recomendação do distanciamento social, atrasou o andamento dos experimentos. Diante disso, não é possível afirmar que o guaraná apresenta efeito anti-inflamatório, pois foi avaliado apenas um único marcador, sendo de grande importância a continuação desse estudo para o direcionamento de pesquisas futuras.

8. CONCLUSÃO

O extrato aquoso do guaraná em pó de uso comercial apresenta um conteúdo classificado como médio de polifenóis totais. Células tratadas com o extrato nas faixas de concentrações de 0,1 a 2,0 mg/mL não apresentaram interferência no crescimento celular, ou seja não apresentaram toxicidade. Ao avaliar a produção de NO• em células estimuladas a inflamação, foi possível observar uma redução significativa desse mediador inflamatório com a utilização do extrato nas concentrações de 1,0 e 1,5mg/mL, o que pode sugerir uma possível resposta anti-inflamatória *in vitro* do extrato do guaraná em pó.

É indispensável novas investigações que avaliem o efeito anti-inflamatório do extrato do guaraná em pó de uso comercial, como a quantificação de outros mediadores inflamatórios que serão importantes para uma confirmação mais precisa dessa bioatividade, para assim, incentivar o consumo do guaraná, que é um alimento nativo do Brasil e com grande importância econômica, em casos de doenças metabólicas cuja inflamação é a causa subjacente.

REFERÊNCIAS

- AGROSPICE (Brasil). **GUARANÁ**. Disponível em: http://agrospice.com.br/ver_produto.asp?cod=47. Acesso em: 14 de out. 2021.
- AHMED, S. M. U. *et al.* Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 2, p. 585-597, 2017.
- AKASH M.S.H; REHMAN K; LIAQAT A. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 119, n. 1, p. 105-110, 2018.
- ANTONELLI-USHIROBIRA, T. M. *et al.* Acute and subchronic toxicological evaluation of the semipurified extract of seeds of guaraná (*Paullinia cupana*) in rodents. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 1817–1820, 2010.
- ANTUNES, Patrícia Beleza. **Análise comparativa das frações polpa, casca, semente e pó comercial do guaraná (*Paullinia cupana*): caracterização química e atividade antioxidante *in vitro***. 2011. 114 f. Dissertação (Doutorado), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011. Disponível em: <https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/USP_a2c77513cc4be316c7b6fa5529aefa98>. Acesso em: 15 ago. 2021.
- BITTENCOURT, S. *et al.* The protective effects of guaraná extract (*Paullinia cupana*) on fibroblast NIH-3T3 cells exposed to sodium nitroprusside. **Food and Chemical Toxicology**, v. 53, p. 119-125, 2013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de doenças e agravos não transmissíveis e Promoção da saúde. **Vigitel Brasil 2019: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília: Ministério de Saúde, 2020. 276 p. Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco.pdf. Acesso em: 12 set. 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de doenças e agravos não transmissíveis e Promoção da saúde. **Plano de Ações Estratégicas para o Enfrentamento das Doenças Crônicas e Agravos não Transmissíveis no Brasil, 2021-2030**. Brasília, 2021. 121 p. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/doencas-cronicas-nao-transmissiveis-dcnt/09-plano-de-dant-2022_2030.pdf/view. Acesso em: 16 out. 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 70, de 16 de março de 1982. **Dispõe sobre normas de identidade, qualidade, embalagem, armazenamento e transporte do guaraná em grão, em bastão e em pó**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 19 mar. 1982. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao->

1/normativos-cgqv/pocs/portaria-no-70-de-16-de-marco-de-1982-guarana/view. Acesso em: 08 ago. 2021.

BARRETO, R. L., CORREIA, C. R. D., MUSCARÁ, M. N. Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 1046-105, 2005.

BILATE, A.M.B. Inflamação, citosinas, proteínas da fase aguda e implicações terapêuticas. **Temas de reumatologia clínica**, v. 8, n. 2, 2007.

CALÇADA D, *et al.* The role of low-grade inflammation and metabolic flexibility in aging and nutritional modulation thereof: a systems biology approach. **Mechanisms of Ageing and Development**, v.136, n.137, p.138-147, 2014.

CANICEIRO, B. D. **Efeitos da *Paullinia cupana* e de seus principais compostos ativos na modulação da resposta imune**. 2012. 120 f. Dissertação (Mestrado) - Patologia Experimental e Comparada, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

CERQUEIRA, N. F. YOSHIDA, W. B. Óxido nítrico: revisão. **Acta Cirúrgica Brasileira**. 2002, v. 17, n. 6, p. 417-423, 2002.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Histórico mensal Guaraná**, outubro 2019. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-Guarana>. Acesso em: 4 jul. 2021.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Histórico mensal Guaraná**, agosto de 2021. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/analises-do-mercado-agropecuario-e-extrativista/analises-do-mercado/historico-mensal-de-Guarana>. Acesso em: 16 out. 2021.

CRUVINEL, W. M. *et al.* Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória; Immune system: Part I. Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammation. **Rev. bras. reumatol**, v. 50, n. 4, p. 434–447, 2010.

DURACKOVÁ Z. Some current insights into oxidative stress. **Physiological Research**, V. 59, n. 4, p. 459-469, 2010.

DUSSE, L. M. S; VIEIRA, L. M; CARVALHO, M. G. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, 2003.

EMBRAPA. Circular técnica nº127. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH**, Fortaleza, CE, 2007. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/426953>.

EMBRAPA. **Melhoramento genético do guaranazeiro**. 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/amazonia-ocidental/busca-de-projetos/-/projeto/37942/melhoramento-genetico-do-guaranazeiro>. Acesso em: 1 set. 2021

ERICKSON, H. T.; CORRÊA, M. P. F.; ESCOBAR, J. R. Guaraná (*Paullinia cupana*) as a commercial crop in Brazilian Amazonia. **Economic Botany**, v. 38, n. 3, p. 273-286, 1984.

FERREIRA A.P.S.; SZWARCOWALD C.L.; DAMACENA G.N. Prevalência e fatores associados da obesidade na população brasileira: estudo com dados aferidos da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Revista brasileira de Epidemiologia**, v.22, 2019.

FIGUEROA, A. L. G. Guaraná, a máquina do tempo dos Sateré-Mawé. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**, v. 11, n. 1, p. 55-85, 2016.

FRAGA, C. G. *et al.* The effects of polyphenols and other bioactives on human health. **Food & Function**, v. 10, n. 2, p. 514-528, 2019.

FURMAN, D. *et al.* Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. **Nature Medicine**, v, 25, p.1822–1832, 2019.

GEORGÉ, S., *et al.* Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 53, p. 1370 – 1373. 2005.

GERALDO, J. M.; ALFENAS, R. C. G. Papel da dieta na prevenção e no controle da inflamação crônica: evidências atuais. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 6, p. 951-967, 2008.

GOUVEIA, V. F. *et al.* Perfil dos produtores de guaraná (*paullinia cupana*) do município de Alta Floresta-MT, **Revista Conexão UEPG**, vol. 8, n. 2, p. 300-311,2012.

GREEN L.C. *et al.* Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, v. 126, n.1, p.131-138, 1982.

HASKELL, C. *et al.* A double-blind, placebo-controlled, multidose evaluation of the acute behavioural effects of guaraná in humans. **Journal of Psychopharmacology**, v. 21, n. 1, 2007.

HENMAN, A. R. Guarana (*Paullinia Cupana* var. *sorbilis*): ecological and social perspectives on an economic plant of the central Amazon basin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 6, n. 3, p. 311-338, 1982.

HONG, H.; SUN, J.; CAI, W. Multimodality imaging of nitric oxide and nitric oxide synthases. **Free Radic Biol Med**, v. 15, n. 47, p. 684-698, 2009.

IDAM- Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas. **Cultura do Guaraná**, 2020. Disponível em: <http://www.idam.am.gov.br/cultura-do-guarana/>. Acesso em: 1 de setembro de 2021.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário 2017**. Disponível em: https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/index.html

KOCH, W. Dietary Polyphenols-Important Non-Nutrients in the Prevention of Chronic Noncommunicable Diseases. A Systematic Review. **Nutrients**, v. 11, n. 5, p. 1039, 2019.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Patologia Básica**. 9. ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 2013. 910 p.

KUNNUMAKKARA, AB. *et al.* Chronic diseases, inflammation, and spices: how are they linked?. **Journal of Translational Medicine**, v. 16, n. 14, 2018.

LAZZAROTTO, S. R. S. *et al.* Folin ciocalteau adapted method to quantify polyphenols in yerba mate extracts. **Revista Movimenta**, v. 13, n. 3, p. 419-426, 2020.

LEITE, R. P *et al.* Protective effect of guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) pre-treatment on cadmium-induced damages in adult wistar testis. **Biological Trace Element Research**, v.141, n.1–3, p. 262–274, 2011.

LENZ, A.F. **Efeito nutrigenômico de extratos aquosos oriundos de alimentos cafeinados na modulação *in vitro* dos genes das enzimas antioxidantes**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica) - Centro de ciências naturais e exatas, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, p. 70. 2015.

LÔBO, G. B. S; SILVA, A. V; MENEZES, G. B. L. Dietary polyphenols and endothelial function in adults without a disease diagnosis: a systematic review of randomized trials. **Brazilian Journal Of Development**, v. 6, n. 11, p. 85320-85346, 2020.

MACHADO, K.N. *et al.* A rapid simultaneous determination of methylxanthines and proanthocyanidins in Brazilian guaraná (*Paullinia cupana* Kunth.). **Food Chemistry**, v. 239, p.180-188, 2018.

MAHAN, L.K.; RAYMOND, J.L. **Krause alimentos, nutrição e dietoterapia**. 14^aed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2018.

MAJHENIC, L.; SKERGET, M.; KNEZ, Z. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. **Food Chemistry**, v. 104, n. 3, p. 1258-1268, 2007

MANACH, C. *et al.* Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

- MARTINS, Carolina de Aguiar. **Avaliação da Atividade Antioxidante *in vitro* e *in vivo* do Guaraná (*Paullinia Cupana*) em pó**. 2010. 130 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2010.
Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/6/6138/tde-31012011-093906/pt-br.php>.
- MATHEUS, M. E. *et al.* Inhibitory effects of Euterpe oleracea Mart. On nitric oxide production and iNOS expression. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 107, p. 291-296, 2006.
- MEERLOO, J. V.; KASPERS, G. J. L.; CLOOS, J. Cell sensitivity assay: The MTT Assay. **Methods Mol Biol**, v. 731, n. 3, p. 237–245, 2011.
- MINIHANE A. M. *et al.* Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. **British Journal of Nutrition**, v.114, n.7, p. 999-1012, 2015.
- MONCADA S, HIGGS A. The L-arginine-nitric oxide pathway. **New England Journal of Medicine**, v. 329, n. 27, p. 2002-2012, 1993.
- MOSMANN, T., Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.
- NACZK M, SHAHIDI F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054, p. 95-111, 2004.
- NEHA, K. *et al.* Medicinal prospects of antioxidants: A review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 178, p. 687–704, 2019.
- NUUTILA A .M, *et al.* Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v. 81, p. 485-93, 2003.
- OBANDA, M.; OWUOR, P.O. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.74, n.2, p.209-215, 1997.
- OLIVEIRA, A. C. *et al.* Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689-702, 2009.
- OLIVEIRA, C. B. C, *et al.* Obesity: Inflammation and Bioactive Compounds. **Journal Of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1, 2020.
- OLIVEIRA, T, A. **Caracterização Físico-química e avaliação da atividade antioxidante *in vitro* do guaraná em pó (*paullinia cupana*)**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro preto, 2021.
- PAOLISSO G.; GIUGLIANO D. Oxidative stress and insulin action. Is there a relationship? **Diabetologia**, v. n. 39, p.357–363, 1996.

PEÑA-OYARZUN, D. *et al.* Autophagy and oxidative stress in non-communicable diseases: A matter of the inflammatory state? **Free radical biology & medicine**, v. 124, p. 61-78, 2018.

PÉREZ-JIMÉNEZ J. *et al.* Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant, food, oils and beverages: extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, v.41, n.3. p. 274-285, 2008.

POLJSAK, B.; ŠUPUT, D.; MILISAV, I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: When to use the synthetic antioxidants. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, 2013.

POSADAS I, *et al.* Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. **Br J Pharmacol**, n. 142 v. 2, p. 331-338, 2004.

RODRIGUES L. *et al.* Phenolic compounds from jaboticaba (*Plinia jaboticaba* (Vell.) Berg) ameliorate intestinal inflammation and associated endotoxemia in obesity. **Food Research International**, v. 141, n.110139, 2021.

RUCHEL, J. *et al.* Hypercholesterolemia and Ecto-enzymes of Purinergic System: Effects of *Paullinia cupana*. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 1, p. 49-57, 2016.

SCHIMPL, F. C. *et al.* guaraná: Revisiting a highly caffeinated plant from the Amazon. **Journal of Ethnopharmacology**, v.150, n. 1, p.14-31, 2013.

SEBRAE - SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO AS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. 2012. **Informações de mercado sobre o guaraná - 2012**. Disponível em Informações de Mercado sobre guaraná - semi.org. Acesso em: 1 de setembro 2021.

SERVATO, João Paulo Silva. **Efeitos da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) no desenvolvimento e progressão do carcinoma de células escamosas bucal experimental e humano**. 2016. 120 f. Tese (Doutorado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

SILVA, Fernanda Guimarães Drummond e. **Antioxidant capacity of protein hydrolysates and phenolic compounds of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) and its modulatory effects on experimental colitis**. 2016. 165 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2016. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/jspui/handle/REPOSIP/321398>. Acesso em: 20 ago. 2021.

SILVA, G. S *et al.* Chemical profiling of guaraná seeds (*Paulliniacupana*) from different geographical origins using UPLC-QTOF-MS combined with chemometrics. **Food Research International**, v. 102, p. 700-709, 2017.

SHIN, J. *et al.* Fulgicidic Acid Isolated from the Rhizomes of *Cyperus rotundus* Suppresses LPS-Induced iNOS, COX-2, TNF- α , and IL-6 Expression by AP-1

Inactivation in RAW264.7 **Macrophages**. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 7, p.1081–1086, 2015.

SOUZA, N. C, *et al.* Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Anacardium occidentale* Leaf Extract. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v.2017, p.1-8, 2017.

SUFRAMA- SUPERINTENDÊNCIA DA ZONA FRANCA DE MANAUS.
Potencialidades regionais, estudo da viabilidade econômica, guaraná. Manaus, **Suframa**, 2003.

TALA, V. R. S. *et al.* Characterization of Proanthocyanidins from *Parkia biglobosa* (Jacq.) G. Don. (Fabaceae) by Flow Injection Analysis — Electrospray Ionization Ion Trap Tandem Mass Spectrometry and Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Mass Spectrometry. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 2803-20, 2013.

TAPAS A. R.; SAKARKAR D.M.; KAKDE R. B. Flavonoids as Nutraceuticals: A Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.7, n.3, p. 1089 – 1099, 2008.

TASNEEM S, *et al.* Molecular pharmacology of inflammation: Medicinal plants as anti-inflammatory agents. **Pharmacological Research**, v. 139, p. 126-140, 2019.

TRIPATHI, P. *et al.* The role of nitric oxide in inflammatory reactions. **FEMS Immunol Med Microbiol**, v. 51, n. 3, p. 443-52, 2007.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food Chemistry**, v. 111, n. 4, p. 816–823, 2008.

VASCONCELOS, M. S. **Atividades antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante do caju (*Anacardium occidentale* L.)**. 2011. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica. Fortaleza, 2011.

VELOSO, C. F. **Effects of vincristine and guarana in cell culture in brain and cerebellum on cell viability and oxidative metabolism**. 2014. 73 f. Dissertação (Mestrado em Fonoaudiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2014.

VOLP, A.C.P *et al.* Capacidade dos Biomarcadores Inflamatórios em Predizer a Síndrome Metabólica. **Arq Bras Endocrinol Meta**, v.52, n. 3, p. 537-49, 2008.

WANG, Z.; NAKAYAMA, T. Inflammation, a Link between Obesity and Cardiovascular Disease. **Mediators Of Inflammation**, [S.L.], v. 2010, p. 1-17, 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Noncommunicable Diseases (NCD) Country Profiles**. Geneva: WHO, 2018a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World Health Statistics 2018: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals**. Geneva: WHO, 2018b.

XIAO, L.; Liu, Y.; Wang, N. New paradigms in inflammatory signaling in vascular endothelial cells. **AJP: Heart and Circulatory Physiology**, v. 306, n. 3, p. 317–325, 2014.

YAHFOUFI, N. *et al.* The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. **Nutrients**, [s. l.], v. 10, n. 11, p. 1618, 2018.

YONEKURA, L. *et al.* Bioavailability of catechins from guaraná (*Paullinia cupana*) and its effect on antioxidant enzymes and other oxidative stress markers in healthy human subjects. **Food e Function**, v. 7, n.7. p. 2970-2978, 2016.

ZAGO, A. *et al.* Efeitos do exercício físico no estado inflamatório crônico de baixo grau induzido pela obesidade. **Revista Odontológica de Araçatuba**, v.34, n.2, p. 27-32, 2013.

ZHANG, J. Y. *et al.* Characterization of Polymethoxylated Flavonoids (PMFs) in the Peels of 'Shatangju' Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) by Online High-Performance Liquid Chromatography Coupled to Photodiode Array Detection and Electrospray Tandem Mass Spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 36, p. 9023-9034, 2012.

ZHONG, Jixin; SHI, Guixiu. Editorial: regulation of inflammation in chronic disease. **Frontiers In Immunology**, [S.L.], v. 10, p. 1-737, 2019.

ANEXO 1- COMPROVAÇÃO SISGEN



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso

Cadastro nº A933339

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **A933339**
 Usuário: **UFOP**
 CPF/CNPJ: **23.070.659/0001-10**
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Paullinia cupana

Título da Atividade: **Avaliação das características físicas, químicas, antioxidantes e funcionais do Guaraná em pó**

Equipe

Melina oliveira **UFOP**
Karina Barbosa de Queiroz **Universidade Federal de Ouro Preto**

Data do Cadastro: **16/04/2019 11:30:10**
 Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **20:33** de **23/04/2019**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL
 ASSOCIADO - **SISGEN**

ANEXO 2- PUBLICAÇÕES GERADAS





República Federativa do Brasil
Ministério da Educação
Universidade Federal de Ouro Preto
Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação
Pró-Reitoria de Graduação
Pró-Reitoria de Extensão
Pró-Reitoria de Assuntos Comunitários e Estudantis
Diretoria de Relações Internacionais

Certificamos que o trabalho **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-INFLAMATÓRIA IN VITRO DO GUARANÁ EM PÓ DE USO COMERCIAL (PAULLINIA CUPANA)**, de autoria de **IVANA DE CASTRO GOMES, MELINA OLIVEIRA DE SOUZA, CARINA CRISTINA PENA, THAINÁ GOMES PEIXOTO e FERNANDA GUIMARÃES DRUMMOND E SILVA**, foi apresentado no **XXIX SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA** do ENCONTRO DE SABERES – UFOP, realizado de 29 de Novembro a 03 de Dezembro de 2021.

Ouro Preto, 03 de Dezembro de 2021.

Autenticidade



Código: 163967119161bb65971a570


Prof. Marcos Eduardo Carvalho G. Knapp
Pró-Reitor de Extensão e Cultura


Prof.ª Dr.ª Tânia Rossi Garbin
Pró-Reitora de Graduação


Renata Guerra de Sá Cote
Pró-Reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação


Jacqueline Pinheiro Schelftz
Diretora de Relações Internacionais


Natália de Souza Lisboa
Pró-reitora de Assuntos Comunitários e Estudantis

Este certificado foi gerado eletronicamente e sua autenticidade poderá ser atestada informando o código em www.encontrodesaberes.ufop.br/certificados