

POTENCIAL ANTI-INFLAMATÓRIO DO EXTRATO DE *Euterpe oleracea* Mart. EM CÉLULAS PULMONARES ATIVADAS¹

ANTI-INFLAMMATORY POTENTIAL OF *Euterpe oleracea* Mart. EXTRACT IN ACTIVATED LUNG CELLS

Carolina Bordin Davidson², Gabriela Sangoi³, Diulie de Souza⁴, Tuyla Fontana⁵,
Giovana Kolinski Cossetin Bonazza⁶, Júlia Vaz Schultz⁷, Mirkos Ortiz Martins⁸,
Solange Binotto Fagan⁹ e Alencar Kolinski Machado¹⁰

RESUMO

Existem várias doenças pulmonares que podem ser de perfil agudo ou crônico e que envolvem a ativação inflamatória. Contudo, os protocolos farmacológicos de tratamento podem muitas vezes conduzir a efeitos adversos que atuam por inviabilizar a terapia proposta. Sendo assim, surge a necessidade do desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas e os produtos naturais estão em destaque neste campo de investigação. Com isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial anti-inflamatório *in vitro* do extrato hidroalcoólico de açaí em células pulmonares (IMR-90) ativadas com lipopolissacarídeo (LPS). Inicialmente, foi produzido e caracterizado um extrato hidroalcoólico de açaí. As células foram expostas a diferentes concentrações do extrato para avaliação do efeito *per se*. Em seguida, as células foram expostas ao LPS durante 24, 48 e 72h de incubação para determinação do protocolo de ativação celular. Então, células ativadas com o LPS foram tratadas com o extrato para avaliação do perfil e eficácia. Após os tratamentos, foram realizadas avaliações de viabilidade e proliferação celular, bem como de determinação dos níveis de óxido nítrico (ON). Foram encontradas 10 moléculas bioativas como parte da matriz química do extrato. A maioria das concentrações do extrato não causou ativação celular *per se*. A concentração de 10 µg/mL de LPS foi a concentração que levou a maior proliferação celular. Por outro lado, a maioria das concentrações do extrato mostrou-se capaz de reduzir os efeitos induzidos pelo LPS, demonstrando o potencial efeito anti-inflamatório do extrato, especialmente via modulação da produção de ON.

Palavras-chave: Efeito bioativo, produto natural, inflamação pulmonar.

1 Trabalho de pesquisa.

2 Aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Universidade Franciscana. E-mail: carolinabd99@gmail.com

3 Aluna do curso de Biomedicina da Universidade Franciscana. E-mail: gabriela.sangoi30@gmail.com

4 Aluna de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Universidade Franciscana. E-mail: diulievsouza@gmail.com

5 Aluna do curso de Biomedicina da Universidade Franciscana. E-mail: tuyla_Fontana@hotmail.com

6 Aluna do curso de Biomedicina da Universidade Franciscana. E-mail: giovanabonazza@hotmail.com

7 Aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Universidade Franciscana. E-mail: juliavschultz@gmail.com

8 Docente do Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Universidade Franciscana. E-mail: mirkos@gmail.com

9 Docente do Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Universidade Franciscana. E-mail: solange.fagan@gmail.com

10 Docente do Programa de Pós-Graduação em Nanociências da Universidade Franciscana e Pesquisador do Departamento de Farmacologia e Toxicologia da University of Toronto. E-mail: alencarkolinski@gmail.com

ABSTRACT

There are several lung diseases that could present acute or chronic profile and that involves inflammatory activation. However, the pharmacological protocols of treatments could lead to side effects that perhaps can compromise the following therapy. In this regard, it is necessary to develop new alternatives of therapy and natural products are highlighted in this field of investigation. Then, the aim of this study was to evaluate the potential *in vitro* anti-inflammatory capacity of a hydroalcoholic açai extract in LPS-activated lung cells (IMR-90). Initially, it was produced and characterized a hydroalcoholic açai extract. The cells were exposed to different concentrations of the extract looking forward to evaluate its *per se* effect. Later, cells were exposed to LPS during 24, 48 and 72h of incubation to determine the protocol of cellular activation. Then, LPS-activated cells were treated with the extract to measure the efficacy profile. After the treatments, it was performed the assays to analyze cellular viability and proliferation, as well as the levels of nitric oxide (NO) production. It was found 10 molecules as part of the extract's chemical matrix. Most of the açai concentrations did not caused any *per se* effect. 10 µg/mL of LPS was the concentration that caused inflammatory activation in the cells. On the other hand, most of the tested açai concentrations were capable to reduce the effects caused by LPS, showing the potential anti-inflammatory capacity of the extract, mainly via NO production modulation.

Keywords: Bioactive effect, natural product, lung inflammation.

INTRODUÇÃO

A inflamação é um mecanismo de defesa natural do organismo humano, contra agentes agressores, como microorganismos, danos teciduais advindos de eventos traumáticos, processos alergênicos e doenças autoimunes, além de ser o mecanismo responsável por iniciar os processos de reparação tecidual (AHMED, 2011). Logo, já é sabido que a resposta inflamatória pode ser ativada via agentes DAMP (do inglês *damage-associated molecular pattern molecules*) e PAMP (do inglês *pathogen-associated molecular pattern molecules*). De modo geral, a inflamação pode ser classificada como aguda ou crônica, envolvendo diferentes mecanismos de resposta celular e proteica (HAMIDZADEH *et al.*, 2017).

Existem diferentes doenças pulmonares que envolvem a ativação da resposta inflamatória. Tais doenças podem ser crônicas ou não, afetando brônquios e/ou bronquíolos e mais especificamente os pneumócitos. Dentre as doenças pulmonares que apresentam cronicidade, podem ser citadas a asma, a doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose pulmonar, dentre outras (AGHASAFARI; GEORGE; PIDAPARTI, 2019). Já quanto a problemáticas respiratórias agudas, podem ser citadas as infecções bacterianas e virais (MESKILL; O'BRYANT, 2020).

O tratamento para a infecção pulmonar é realizado baseado em medicamentos que atuem com o objetivo de eliminar o microorganismo infeccioso, como antibióticos, antivirais e antifúngicos, ou baseado em anti-inflamatórios e antitérmicos quando se tem apenas um quadro de doença inflamatória (SIMÕES *et al.*, 2018). Todavia, infelizmente existem muitos casos onde tais protocolos farmacológicos podem conduzir a efeitos adversos, os que por vezes podem inviabilizar o tratamento. Dentre os possíveis efeitos adversos podem ser citados os problemas gastrointestinais,

reações de hipersensibilidade, resistência farmacológica, dentre outros (LIN; NURUZZAMAN; SHAH, 2009; ZHANG; CHEN; CHEN, 2019). Neste sentido, atualmente, existe um crescente interesse em desenvolver terapias alternativas, que atuem de forma eficaz e que apresentem efeitos adversos reduzidos ou nulos, tendo em destaque os produtos naturais, como, por exemplo, o *Euterpe oleracea* Mart. (açai).

O açai é um fruto nativo da região amazônica e que vem sendo muito explorado cientificamente. Já existem evidências de diversos efeitos biológicos de tal fruto, dentre os quais podem ser citados a atividade antioxidante (GARZÓN *et al.*, 2017; KANG *et al.*, 2011), antitumoral (FREITAS *et al.*, 2017; PERINI *et al.*, 2018), neuroprotetora (MACHADO *et al.*, 2016) e até mesmo anti-inflamatória (de SOUZA *et al.*, 2020). Segundo Ford e colaboradores (2016), os polifenóis presentes no açai são capazes de reduzir os níveis de mediadores pró-inflamatórios em linfócitos humanos, o que por vez sugere que o açai pode ser uma potencial alternativa contra a ativação inflamatória crônica. Já Machado e colaboradores (2019) verificaram que macrófagos ativados com fitohemaglutinina e tratados com o extrato de açai apresentaram níveis reduzidos de citocinas pró-inflamatórias. Adicionalmente, de Souza e colaboradores (2020) demonstraram o efeito anti-neuroinflamatório do extrato de açai utilizando microglias ativadas com lipopolissacarídeo (LPS). Quanto ao mecanismo de ação anti-inflamatória *in vitro*, Cadoná e colaboradores (2021) mostraram que tal efeito ocorre potencialmente via modulação do inflamassoma NLRP3 (do inglês *Nod-like receptor family, pyrin domain-containing 3*).

Todavia, o entendimento dos mecanismos de ação anti-inflamatória do extrato de açai ainda podem ser mais exploradas, da mesma forma, ainda não existem evidências científicas de que o extrato de açai desempenha atividade anti-inflamatória em células pulmonares.

A partir disso, o objetivo deste estudo foi verificar o potencial anti-inflamatório *in vitro* do extrato de açai em células pulmonares ativadas com LPS.

METODOLOGIA

DESENHO EXPERIMENTAL

O presente estudo é uma pesquisa de caráter experimental *in vitro* que visa avaliar o potencial efeito anti-inflamatório do extrato hidroalcoólico de açai utilizando uma linhagem celular pulmonar. Para isso, as células pulmonares foram inicialmente ativadas com LPS e em seguida tratadas com uma curva concentração-resposta de extrato de açai durante diferentes períodos de incubação. Em seguida, foram realizados ensaios colorimétricos para avaliação dos índices de viabilidade e proliferação celular e de produção de óxido nítrico. Todos os experimentos desenvolvidos foram realizados em quadruplicatas.

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE AÇAÍ

Para a obtenção do extrato foram adquiridos frutos frescos de um local de colheita da região amazônica. Os frutos foram transportados até um laboratório de cultivo celular do município de Santa Maria, RS, sob refrigeração. No laboratório, os frutos foram macerados e armazenados em frasco âmbar, de acordo com Bittencourt e colaboradores (2013), e o solvente utilizado foi o etanol 70% (v/v). Ao final do processo total de 21 dias de extração, os produtos filtrados foram rotaevaporados e liofilizados, para obtenção do extrato em pó. Em seguida, foi realizada a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) para detectar os componentes da matriz química do extrato produzido, seguindo as instruções de Boligon e colaboradores (2014).

CULTIVO CELULAR E TRATAMENTOS

A linhagem celular IMR-90 (ATCC® CCL-186™) de fibroblasto pulmonar, foi obtida comercialmente do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ, Rio de Janeiro, Brasil). As células foram cultivadas utilizando meio de cultivo *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% (v/v) de penicilina/estreptomicina, e mantidas em incubadora de CO₂, configurada para 5% de CO₂ a 37°C. Após a obtenção de um número necessário de células, as mesmas foram dispostas em placas de 96 poços. Inicialmente, as células foram expostas a uma curva concentração-efeito de extrato de açaí em concentrações de 0,001 a 1000 µg/mL durante 24, 48 e 72 horas para verificação do efeito do extrato livre em ativar a resposta inflamatória celular. Em sequência, as células foram expostas a diferentes concentrações de LPS (0.1, 1 e 10 µg/mL) a fim de optar pela melhor concentração capaz de ativar a inflamação celular e desta forma desenvolver um protocolo de ativação inflamatória de células pulmonares. Vale ressaltar que a ativação celular, induzida pelo LPS, foi considerada via aumento do índice de proliferação celular e via aumento da produção de óxido nítrico. Em sequência, foi induzida a ativação inflamatória celular com LPS e as células foram tratadas concomitantemente com diferentes concentrações do extrato de açaí (0,001-1000 µg/mL), seguido da determinação da viabilidade e proliferação celular através do ensaio colorimétrico do brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) e mensuração da taxa de produção de óxido nítrico via protocolo indireto. Vale ressaltar que a ativação celular foi considerada com o aumento dos índices de proliferação celular e de produção de

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E PROLIFERAÇÃO CELULAR

A fim de avaliar a viabilidade (24 e 48h de incubação) e proliferação (72h de incubação) celular, foi realizado o ensaio do MTT, de acordo com Kang e colaboradores (2010). Este teste é um ensaio

colorimétrico em que o reagente MTT, um sal de tetrazolium de coloração amarelada, penetra nas células, sendo metabolizado por enzimas succinato-desidrogenases de células viáveis formando cristais de formazan, de coloração violácea. Os cristais de formazan, armazenados no citoplasma celular, foram solubilizados posteriormente pela adição de dimetilsulfóxido (DMSO). Como a metabolização do MTT ocorre somente em células viáveis, a diminuição da absorbância dos grupos teste, em relação ao controle negativo (apenas células e meio de cultura), indicam morte celular. As placas permaneceram em estufa à 37 °C com 5% de CO₂, durante 2 horas e a leitura da absorbância foi realizada em um equipamento leitor de placas SpectraMax i3 (Molecular Devices, San Jose, CA, EUA) a 570 nm.

DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS INDIRETOS DE ÓXIDO NÍTRICO

O ensaio de determinação indireta dos níveis de óxido nítrico (ON) foi conduzido de acordo com Choi e colaboradores (2012). Este ensaio é baseado no uso do reagente de *Griess* e tem por finalidade detectar a presença de nitrito (NO²⁻) e nitrato metabólico na amostra, sendo um importante parâmetro na avaliação da atividade anti-inflamatória. Os valores de absorbância foram determinados em um leitor de placas SpectraMax i3 (Molecular Devices, San Jose, CA, EUA) a 540 nm.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos inicialmente foram dispostos em uma tabela e convertidos para porcentagem ± desvio padrão em relação ao grupo de células não tratadas (controle negativo). Em seguida, a análise estatística foi realizada através do *software GraphPad Prism*[®] utilizando ANOVA de uma via, seguido de *post hoc* de Tukey. Foram considerados estatisticamente significativos os resultados com $p < 0.05$.

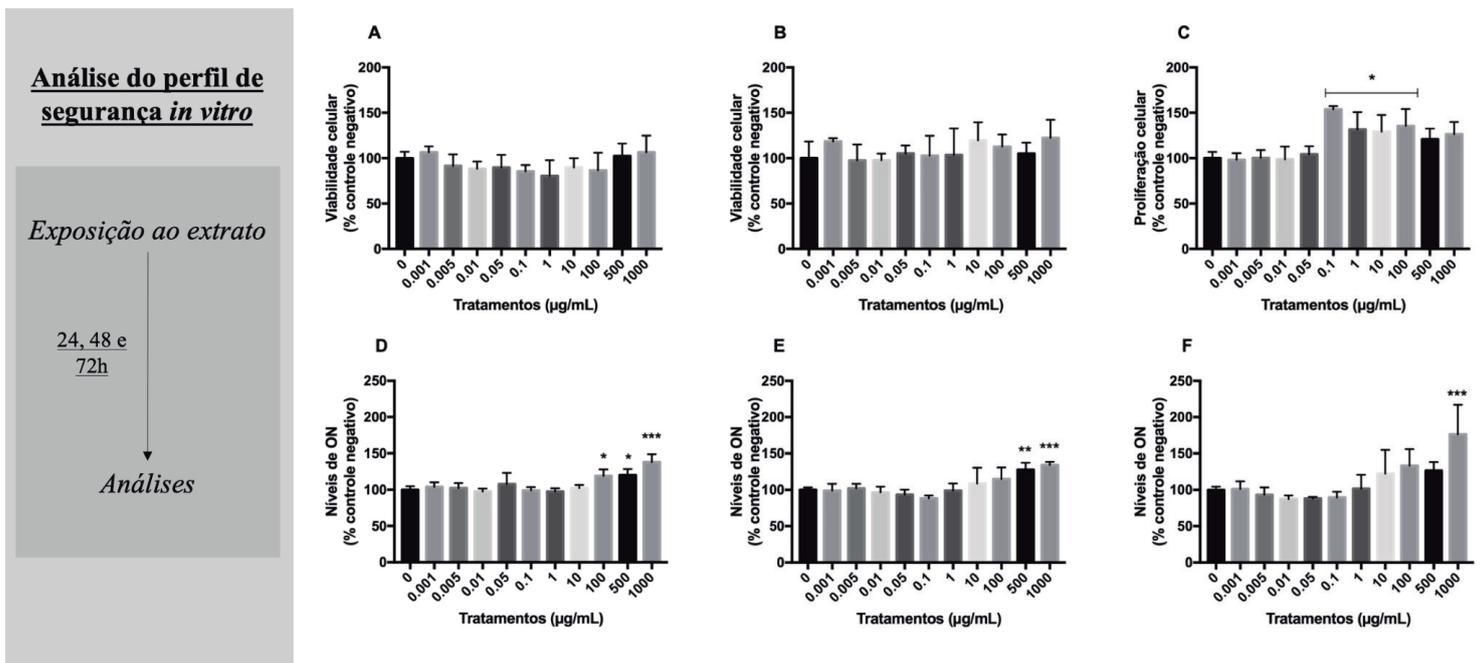
RESULTADOS

Inicialmente as células IMR-90 foram expostas a diferentes concentrações do extrato hidroalcoólico de açaí. Nos resultados do teste de viabilidade celular, em 24 e 48h de tratamento com o extrato, não foram observados diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo controle para nenhuma das concentrações utilizadas (Figura 1A e 1B). Entretanto, houve aumento do índice de proliferação celular após 72h de exposição, especialmente quando as células foram expostas às concentrações de 0.1-100 µg/mL do extrato de açaí (Figura 1C).

Em relação a determinação indireta de ON, as concentrações mais elevadas do extrato (100, 500 e 1000 µg/mL) foram capazes de ativar as células, indicando geração de espécies reativas de nitrogênio após 24h de exposição (Figura 1D). As células expostas às concentrações de 500 e 1000 µg/mL

durante 48h também apresentaram este mesmo perfil de produção de ON (Figura 1E). Adicionalmente, as células pulmonares tratadas com 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ durante 72h mostraram-se com produção significativamente aumentada de ON (Figura 1F).

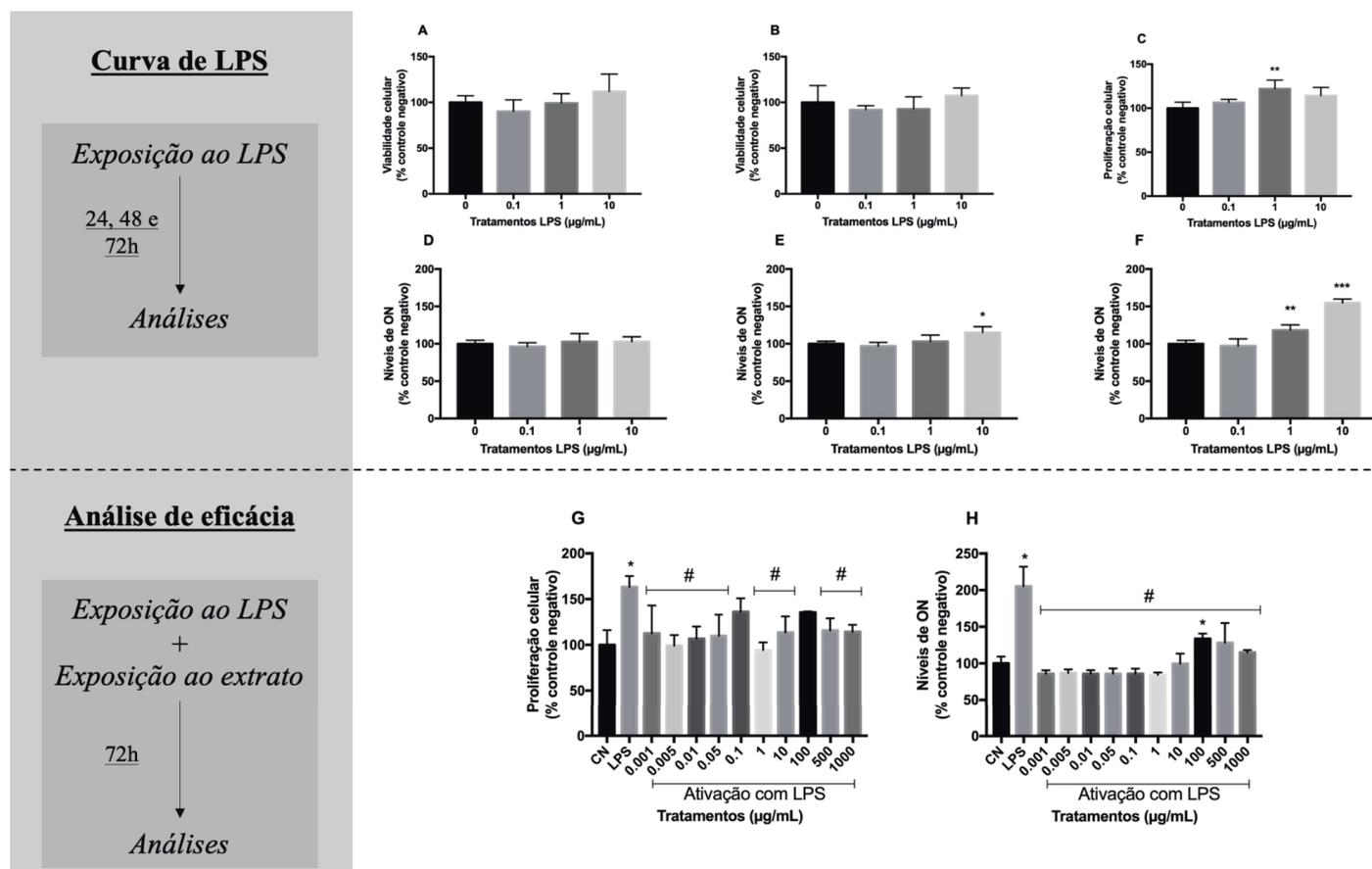
Figura 1 - Análise do perfil de segurança *in vitro* do extrato hidroalcoólico de açaí. (A) avaliação da viabilidade celular após 24h de exposição; (B) avaliação da viabilidade celular após 48h de exposição; (C) avaliação da proliferação celular após 72h de exposição; (D) determinação dos níveis indiretos de óxido nítrico após 24h de exposição; (E) determinação dos níveis indiretos de óxido nítrico após 48h de exposição; (F) determinação dos níveis indiretos de óxido nítrico após 72h de exposição. A análise estatística foi realizada via ANOVA de uma via seguido de *post hoc* de Tukey. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.



Fonte: Construção dos autores.

Células pulmonares expostas às diferentes concentrações de LPS apresentaram índice significativamente aumentado de proliferação celular na concentração de 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ após 72h de incubação (Figura 2C). Esta mesma concentração foi capaz de aumentar os níveis de ON também após 72h de exposição. Contudo, a concentração de 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mostrou-se eficaz no aumento da produção de ON a partir de 48h de exposição ao LPS. Adicionalmente, este mesmo efeito foi observado após 72h de incubação (Figuras 1E e 1F, respectivamente).

Figura 2 - Análises da curva de LPS e análise do perfil de eficácia anti-inflamatória do extrato hidroalcoólico de açaí. (A) avaliação da viabilidade celular após 24h de exposição ao LPS; (B) avaliação da viabilidade celular após 48h de exposição ao LPS; (C) avaliação da proliferação celular após 72h de exposição ao LPS; (D) determinação dos níveis indiretos de óxido nítrico após 24h de exposição ao LPS; (E) determinação dos níveis indiretos de óxido nítrico após 48h de exposição ao LPS; (F) determinação dos níveis indiretos de óxido nítrico após 72h de exposição ao LPS; (G) análise da proliferação celular em células ativadas com LPS (10 µg/mL) e tratadas com o extrato de açaí; (H) análise dos níveis de óxido nítrico em células ativadas com LPS (10 µg/mL) e tratadas com o extrato de açaí. A análise estatística foi realizada via ANOVA de uma via seguido de *post hoc* de Tukey. * representa comparação com o controle negativo, sendo: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; # representa comparação com o controle positivo de LPS, sendo # $p < 0,05$.



Fonte: Construção dos autores.

Na análise de eficácia anti-inflamatória do extrato de açaí, foi observado que células pulmonares ativadas com 10 µg/mL de LPS apresentaram aumento no índice de proliferação celular e de produção de óxido nítrico comparado ao controle negativo. Por outro lado, quando células ativadas foram tratadas com as diferentes concentrações de extrato hidroalcoólico de açaí, houve um perfil de resposta diferenciado do controle positivo de LPS. A maioria das concentrações testadas do extrato induziram uma redução da proliferação celular a níveis semelhantes ao controle negativo, com exceção das concentrações de 0,1 e 100 µg/mL. Adicionalmente, todas as concentrações de extrato aqui testadas foram capazes de reduzir os níveis de óxido nítrico quando comparado ao controle positivo de LPS.

DISCUSSÃO

Este estudo experimental *in vitro* foi desenvolvido para investigar o potencial anti-inflamatório do extrato hidroalcoólico de açaí em células pulmonares. Para isso, foi inicialmente produzido um extrato de açaí, o qual possuiu coloração púrpura homogênea. Em um estudo previamente publicado por Souza e colaboradores (2020) também desenvolvido com extrato hidroalcoólico de açaí, foram encontradas 10 diferentes moléculas bioativas na matriz química do extrato, dentre as quais, a orientina, o ácido p-cumárico e a luteolina foram as mais abundantes. A orientina é uma molécula flavonóide que possui diversas propriedades biológicas conhecidas, como, por exemplo, antioxidante, antitumoral e anti-inflamatória (AN *et al.*, 2015; LAM *et al.*, 2016; PRAVEENA *et al.*, 2014; THANGARAJ *et al.*, 2019). Já a luteolina, também uma molécula flavonóide, possui propriedades cardioprotetoras, hipoglicemiantes, antitumorais, anti-neuroinflamatórias e anti-inflamatórias (CORDARO; CUZZOCREA; CRUPI, 2020; LUO; SHANG; LI, 2017; XIA *et al.*, 2016; ZANG; IGARASHI; LI, 2016). O ácido p-cumárico, por sua vez, é uma substância fenólica não flavonóide e apresenta atividade antioxidante, antimicrobiana, imunomoduladora, anti-inflamatória, entre outros efeitos biológicos (BOZ, 2015; PRAGASAM; VENKATESAN; RASOOL, 2013).

Em seguida, os experimentos *in vitro* iniciais que fazem parte desta investigação, incluíram a exposição das células IMR-90 a uma curva concentração-efeito de extrato hidroalcoólico de açaí durante 24, 48 e 72h de incubação. Tal etapa foi desenvolvida com o intuito de verificar se o próprio extrato poderia ativar as células de maneira independente. Felizmente, a maioria das concentrações utilizadas não causaram aumento dos índices de proliferação celular comparado ao controle negativo, bem como não houve aumento nos níveis de ON. Esses resultados estão em concordância com os dados obtidos por Machado e colaboradores (2019), onde foi realizada exposição de macrófagos da linhagem RAW 264.7 a uma curva concentração-resposta de extrato de açaí e não foram observadas mudanças expressivas no perfil biológico das células utilizadas. O mesmo também foi encontrado no estudo desenvolvido por de Souza e colaboradores (2020). Em tal pesquisa, os autores inicialmente expuseram micróglia da linhagem BV-2 a diferentes concentrações de extrato de açaí e apenas as concentrações mais elevadas mostraram-se capazes de aumentar os níveis de proliferação e de produção de ON comparado ao controle negativo.

Na sequência, as células IMR-90 foram expostas a três diferentes concentrações de LPS, as quais: 0,1; 1; e 10 µg/mL durante 24, 48 e 72h de incubação. Esta etapa foi realizada para a padronização de um modelo de indução inflamatória em células pulmonares. A concentração de 0,1 µg/mL não induziu nenhuma mudança significativa nas células expostas após todos os períodos de incubação. Por outro lado, as concentrações de 1 e 10 µg/mL causaram aumento da proliferação celular e/ou aumento dos índices de produção de óxido nítrico. Com isso, a concentração de 10 µg/mL foi selecionada para a continuidade das análises experimentais, pois a mesma foi capaz de causar significativo aumento de ON já

a partir do período de incubação de 48h. Sabe-se que o ON é uma molécula gasosa que está envolvida em diferentes processos de sinalização celular, dentre os quais está incluída a ativação inflamatória (PAPI; AHMADIZAR; HASANVAND, 2019). Células de perfil inflamatório quando ativadas podem apresentar aumento de ON via mecanismo que inclui a produção de citocinas pró-inflamatórias. O aumento de citocinas, como o interferon (IFN)- γ , o fator de necrose tumoral (TNF)- α e a interleucina (IL)-1, atua por aumentar os níveis do indutor de síntese de óxido nítrico (iNOS) e isso por sua vez conduz a elevados índices de ON (HEBA *et al.*, 2001). Logo, o ON acaba sendo um excelente marcador de ativação de células inflamatórias, especialmente por o LPS ser um dos principais indutores de resposta inflamatória.

Após a determinação do modelo de ativação inflamatória em células pulmonares, as células IMR-90 foram ativadas com 10 $\mu\text{g/mL}$ por 72h e também tratadas com a curva concentração-resposta de extrato de açaí. Foi observado que a maioria das concentrações do extrato utilizadas causaram uma redução significativa no índice de proliferação celular comparado ao controle positivo de LPS, sendo tais índices mantidos a níveis semelhantes ao grupo de células não tratadas. Contudo, as concentrações de 0,1 e 100 $\mu\text{g/mL}$ não mostraram-se capazes de reverter os efeitos do LPS. Adicionalmente, todas as concentrações do extrato foram capazes de reduzir o aumento de ON causado pelo LPS, especialmente na faixa de concentrações entre 0,001-10 $\mu\text{g/mL}$, sugerindo que o extrato possui potencial eficácia via tal mecanismo de sinalização celular. Na pesquisa desenvolvida por Cadoná e colaboradores (2021) foi investigada a capacidade do extrato hidroalcoólico de açaí em reverter a ativação inflamatória induzida por LPS, nigericina e LPS+nigericina em células microgлияis. Em tal investigação *in vitro*, os autores demonstraram que o extrato de açaí atua por normalizar os níveis de ON em células com indução inflamatória. Além disso, os autores também demonstraram o potencial mecanismo pelo qual o extrato atua, sendo este relacionado ao inflamassoma NLRP3. Os resultados aqui descritos atuam por corroborar com a pesquisa mencionada.

Vale ressaltar que este estudo foi desenvolvido inteiramente via métodos *in vitro*. Logo, análises complementares que visem elucidar o mecanismo de ação anti-inflamatória pulmonar do extrato, bem como os efeitos *in vivo*, podem ser conduzidas.

CONCLUSÃO

Após uma revisão na bibliografia, constatou-se que essa pesquisa é a primeira que avalia o potencial anti-inflamatório do extrato hidroalcoólico de açaí em células pulmonares com inflamação induzida por LPS. Via análises experimentais, foi observado que o extrato de açaí não é capaz de induzir ativação celular *per se*, logo apresentando considerável perfil de segurança *in vitro*. Adicionalmente, foi possível estabelecer um modelo de ativação inflamatória *in vitro* em células IMR-90, o que por vez pode servir como referência para pesquisas futuras neste campo

de investigação. Por fim, foi possível observar que o extrato de açai possui potencial efeito anti-inflamatório em células pulmonares e tal eficácia mostra-se relacionada à modulação da produção de óxido nítrico.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) (número de protocolo: 88887.506897/2020-00) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (número de protocolo: 4092652037892470) pelo financiamento deste estudo.

REFERÊNCIAS

AGHASAFARI, P.; GEORGE, U.; PIDAPARTI, R. A review of inflammatory mechanism in airway diseases. **Inflammation Research**, v. 68, n. 1, p. 59-74, 2019.

AHMED, A. U. An overview of inflammation: Mechanism and consequences. **Frontiers of Biology in China**, v. 6, n. 4, p. 274-281, 2011.

AN, F. *et al.* Effects of orientin and vitexin from *Trollius chinensis* on the growth and apoptosis of esophageal cancer EC-109 cells. **Oncology Letters**, v. 10, n. 4, p. 2627-2633, 2015.

BITTENCOURT, L. 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.

BOLIGON, A. A.; ABBAS, S. R.; SABIR, S. M.; AHMAD, S. D.; ATHAYDE, M. L. Phenolic profile, antioxidant potential and DNA damage protecting activity of sugarcane (*Saccharum officinarum*). **Food Chemistry**, v. 147, p. 10-16, 2014.

BOZ, H. p-Coumaric acid in cereals: Presence, antioxidant and antimicrobial effects. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 11, p. 2323-2328, 2015.

CADONÁ, F. C. *et al.* Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) as a Potential Anti-neuroinflammatory Agent: NLRP3 Priming and Activating Signal Pathway Modulation. **Molecular Neurobiology**, v. 3, 2021.

CHOI, W. S. *et al.* The regulatory effect of veratric acid on NO production in LPS-stimulated RAW264.7 macrophage cells. **Cellular Immunology**, v. 280, n. 2, p. 164-170, 2012.

CORDARO, M.; CUZZOCREA, S.; CRUPI, R. An update of palmitoylethanolamide and luteolin effects in preclinical and clinical studies of neuroinflammatory events. **Antioxidants**, v. 9, n. 3, 2020.

DE SOUZA, D. V. *et al.* Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) presents anti-neuroinflammatory capacity in LPS-activated microglia cells. **Nutritional Neuroscience**, v. 0, n. 0, p. 1-12, 2020.

FORD, C. T. *et al.* Identification of (poly)phenol treatments that modulate the release of pro-inflammatory cytokines by human lymphocytes. **British Journal of Nutrition**, v. 115, n. 10, p. 1699-1710, 2016.

FREITAS *et al.* Cytotoxic analysis and chemical characterization of fractions of the hydroalcoholic extract of the *Euterpe oleracea* Mart. seed in the MCF-7 cell line. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 69, n. 6, p. 714-721, 2017.

GARZÓN, G. A. *et al.* Polyphenolic composition and antioxidant activity of açai (*Euterpe oleracea* Mart.) from Colombia. **Food Chemistry**, v. 217, p. 364-372, 2017.

HAMIDZADEH, K. *et al.* Macrophages and the Recovery from Acute and Chronic Inflammation. **Annual Review of Physiology**, v. 79, p. 567-592, 2017.

HEBA, G. *et al.* Relation between expression of TNF alpha, iNOS, VEGF mRNA and development of heart failure after experimental myocardial infarction in rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 52, p. 39-52, 2001.

KANG, J. *et al.* Anti-oxidant capacities of flavonoid compounds isolated from acai pulp (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 610-617, 2010.

KANG, J. *et al.* Flavonoids from acai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 152-157, 2011.

LAM, K. Y. *et al.* A review on medicinal properties of orientin. **Advances in Pharmacological Sciences**, v. 2016, 2016.

LIN, R. Y.; NURUZZAMAN, F.; SHAH, S. N. Incidence and impact of adverse effects to antibiotics in hospitalized adults with pneumonia. **Journal of Hospital Medicine**, v. 4, n. 2, p. 7-15, 2009.

LUO, Y.; SHANG, P.; LI, D. Luteolin: A Flavonoid that has multiple cardio-protective effects and its molecular mechanisms. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, n. OCT, p. 1-10, 2017.

MACHADO, A. K. *et al.* Neuroprotective Effects of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) against Rotenone in Vitro Exposure. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, 2016.

MACHADO, A. K. *et al.* Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) has anti-inflammatory potential through NLRP3-inflammasome modulation. **Journal of Functional Foods**, v. 56, p. 364-371, 2019.

MESKILL, S. D.; O'BRYANT, S. C. Respiratory Virus Co-infection in Acute Respiratory Infections in Children. **Current Infectious Disease Reports**, v. 22, n. 1, 2020.

PAPI, S.; AHMADIZAR, F.; HASANVAND, A. The role of nitric oxide in inflammation and oxidative stress. **Immunopathologia Persa**, v. 5, n. 1, p. e08-e08, 2019.

PERINI, J. *et al.* Anticancer potential, molecular mechanisms and toxicity of *Euterpe oleracea* extract (açai): A systematic review. **PLoS ONE**, v. 13, n. 7, p. 1-16, 2018.

PRAGASAM, S. J.; VENKATESAN, V.; RASOOL, M. Immunomodulatory and anti-inflammatory effect of p-coumaric acid, a common dietary polyphenol on experimental inflammation in rats. **Inflammation**, v. 36, n. 1, p. 169-176, 2013.

PRAVEENA, R. *et al.* Antioxidant potential of orientin: A combined experimental and DFT approach. **Journal of Molecular Structure**, v. 1061, n. 1, p. 114-123, 2014.

SIMÕES, E. A. F. *et al.* Past, Present and Future Approaches to the Prevention and Treatment of Respiratory Syncytial Virus Infection in Children. **Infectious Diseases and Therapy**, v. 7, n. 1, p. 87-120, 2018.

THANGARAJ, K. *et al.* Orientin induces G0/G1 cell cycle arrest and mitochondria mediated intrinsic apoptosis in human colorectal carcinoma HT29 cells. **Biomolecules**, v. 9, n. 9, p. 1-17, 2019.

XIA, N. *et al.* Anti-inflammatory effects of luteolin on experimental autoimmune thyroiditis in mice. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 12, n. 6, p. 4049-4054, 2016.

ZANG, Y.; IGARASHI, K.; LI, Y. L. Anti-diabetic effects of luteolin and luteolin-7-O-glucoside on KK-Ay mice. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 80, n. 8, p. 1580-1586, 2016.

ZHANG, S.; CHEN, D. C.; CHEN, L. M. Facing a new challenge: The adverse effects of antibiotics on gut microbiota and host immunity. **Chinese Medical Journal**, v. 132, n. 10, p. 1135-1138, 2019.