

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Amanda da Silva Chaves

**ANÁLISE DE AMOSTRAS DE CHÁ VERDE *Camellia Sinensis* (L.) Kuntze
COMERCIALIZADAS EM CÁPSULA QUANTO AOS ASPECTOS NO CONTROLE
DE QUALIDADE**

Rio de Janeiro

2018

Amanda da Silva Chaves

ANÁLISE DE AMOSTRAS DE CHÁ VERDE *Camellia Sinensis* (L.) Kuntze
COMERCIALIZADAS EM CÁPSULA QUANTO AOS ASPECTOS NO CONTROLE DE
QUALIDADE

Dissertação de mestrado acadêmico
apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional
de Controle de Qualidade em Saúde da
Fundação Oswaldo Cruz como requisito para
obter o título de mestre em ciências.
Orientadores: Dr. Fausto Klabund Ferraris e
Dr. Fabio Coelho Amendoeira

Rio de Janeiro

2018

Catálogo na fonte
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Biblioteca

Chaves, Amanda da Silva

Análise de amostras de chá verde (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) comercializadas em cápsula quanto aos aspectos no controle de qualidade. / Amanda da Silva Chaves – Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2018.

96 f.: fig.; tab.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional em Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2018.

Orientadores: Fausto Klabund Ferraris e Fabio Coelho Amendoeira.

1. Obesidade. 2. Chá. 3. Catequina. I. Título

Analysis of green tea samples (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) marketed in capsule regarding quality control aspects.

Amanda da Silva Chaves

**ANÁLISE DE AMOSTRAS DE CHÁ VERDE *Camellia Sinensis* (L.) Kuntze
COMERCIALIZADAS EM CÁPSULA QUANTO AOS ASPECTOS NO CONTROLE
DE QUALIDADE**

Dissertação de mestrado acadêmico apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito para obter o título de mestre em ciências. Orientadores: Dr. Fausto Klabund Ferraris e Dr. Fabio Coelho Amendoeira

Aprovado em: 26 /02 /2018

BANCA EXAMINADORA

Dra. Bernardete Ferraz Spisso

(Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde)

Dr. André Candea

(Centro Universitário Augusto Motta)

Dra. Silvana Couto Jacob

(Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde)

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo seu amor incondicional. Por me ajudar em todos os momentos, sejam estes de alegria ou de tristeza e por me dar forças para chegar até aqui.

A minha Mãe e minha Madrinha que me apoiam com carinho, me dando todo amor e suporte que preciso.

A coordenação da Pós-Graduação pela oportunidade de poder expandir meus conhecimentos e fazer parte desse grande grupo que é o INCQS.

Aos Doutores Lisia Gobbo Santos, Silvana Jacob e André Mazzei pela oportunidade de poder aprender novas metodologias em uma área tão essencial e tão esquecida por um profissional da nutrição: a química. Sem vocês, eu não conseguiria dar continuidade a este trabalho. Muito obrigada!

Ao grupo LabFar, aos Dr. Fabio Amendoeira, Dr. Fausto Ferraris e aos queridos alunos que participaram e continuarão participando da minha jornada acadêmica e pessoal por toda a vida. Levarei vocês para sempre em meu coração. Nunca, em todos esses anos de estudo, trabalhei com pessoas tão comprometidas com o que fazem, além de serem companheiras em todas as situações, e que fazem o lema 'A união faz a força' valer tão a pena.

RESUMO

A obesidade é considerada um dos maiores problemas de saúde pública mundial, sendo que no Brasil, a frequência de adultos obesos cresceu 60% em 10 anos, e tratamentos para a obesidade envolvem dieta, prática de exercícios físicos, cirurgias, e frequentemente, farmacoterapia. O chá verde é uma bebida consumida em todo o mundo, cuja popularidade é dada pela presença de flavonoides que possuem ação anti-inflamatória e antiobesogênica, atuando no controle do metabolismo de lipídeos. O objetivo desse estudo foi avaliar o teor da epigalocatequina galato e a presença de contaminantes inorgânicos em diferentes marcas de chás verdes comercializadas em cápsula, e o efeito do tratamento deste produto em um modelo animal de obesidade. Trata-se de um estudo experimental, onde foram utilizados camundongos machos da linhagem C57BL6/J em dois ensaios; o primeiro com 17 semanas de consumo de dieta hiperlipídica e dieta normolipídica, e o segundo com consumo de dieta e tratamento com chá verde por 4 semanas. A avaliação dos contaminantes inorgânicos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite mostrou que os elementos arsênico e cádmio encontraram-se dentro do limite máximo permitido por legislação, entretanto o elemento chumbo foi encontrado em altas concentrações nos chás verdes em sete das onze amostras avaliadas em concentrações variando de 0,63 a 4,54 mg/Kg. Na análise da epigalocatequina galato através do método de cromatografia líquida de ultra eficiência com detector UV-VIS com arranjo de diodos, dez das onze amostras analisadas apresentaram um perfil cromatográfico semelhante ao apresentado pelo padrão da catequina, e foram identificados valores de epigalocatequina galato de 0,145 a 48,55 mg/g em todas as amostras avaliadas. No ensaio de obesidade, os animais da dieta hiperlipídica tratados com chá verde não apresentaram redução ou proteção no peso corporal, quando comparado ao grupo dieta hiperlipídica. Em contrapartida, foi observado que os animais da dieta normolipídica tratados com chá verde apresentaram proteção no ganho de peso corporal durante todo o tratamento.

Palavras-chave: Chá verde. Obesidade. Epigalocatequina-3-galato.

ABSTRACT

Obesity is considered one of the biggest public health issues in the world, where in Brazil the frequency of adults with obesity increased in 60% in ten years. Obesity treatments involves diet, exercise, surgery, and often, pharmacotherapy. Green tea is one of most consumed beverages all over the world, whose popularity is known by the presence of flavonoids and anti-inflammatory, lipid metabolism control and body weight control. This study aimed to establish the content of epigallocatechin gallate in each samples, the presence of inorganic pollutants, and the effect of its treatment in a diet induced obesity in mice. It is an experimental study, where we used male mice C57BL6/J in two different assays, one with 17 weeks to evaluate the consume of a high-fat diet to induce obesity and a normolipid diet to maintain weight gain; and in the other assay, animals were treated with green tea during four weeks. The evaluation for inorganic contaminants by Graphite furnace atomic absorption spectroscopy showed the elements arsenic and cadmium were within the fullest extent permitted by Brazilian legislation, however, the lead element was found in high concentrations in seven of eleven brands analyzed (0.63 to 4.54 mg/Kg). In the analysis of epigallocatechin gallate by Ultra-high performance liquid chromatography, ten of eleven brands analyzed showed a similar chromatographic profile as the standard chromatographic and also showed values of epigallocatechin gallate among 0.145 to 48.55 mg/g. In obesity assays, diet induced obesity animals treated with green tea showed no significant difference in comparison to control group. However, normolipid diet fed mice treated with green tea showed weight loss during all treatment.

Keywords: Obesity. Green tea. Epigallocatechin-3-gallate.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** Estrutura da catequina EGCG presente no chá verde com os radicais ligados aos anéis A, B e D que caracterizam a ação antioxidante da molécula.28
- Figura 2** Curva de calibração da catequina EGCG em chá verde em cápsula com equação da regressão linear4949
- Figura 3** Cromatograma das amostras de chá verde em cápsula, através do método de UPLC-UV/Vis-DAD. As amostras estão identificadas como branco, amostra A (lotes 1 e 2, alíquotas a e b, cada), e amostra A (lote 3, alíquota a).50
- Figura 4** Cromatograma das amostras de chá verde em cápsula, através do método de UPLC-UV/Vis-DAD. As amostras estão identificadas como amostra A (lote 3, alíquota b), amostra B (lotes 1 e 2, alíquotas a e b) e amostra C (lote 1, alíquota a).51
- Figura 5** Cromatograma das amostras de chá verde em cápsula, através do método de UPLC-UV/Vis-DAD. As amostras estão identificadas como amostra C (lote 1, alíquota b), amostra C (lote 2, alíquotas a e b), amostra D (lote 1, alíquotas a e b) e amostra D (lote 2, alíquota a)...52
- Figura 6** Cromatograma das amostras de chá verde em cápsula, através do método de UPLC-UV/Vis-DAD. As amostras estão identificadas como amostra D (lote 2, alíquota b), amostra E (lote único, alíquotas a e b) e amostra F (lote único, alíquotas a e b).53
- Figura 7** (a) Cromatograma UV/Vis referente à amostra A (lote 1) mostrando o pico em 276,03 nm da catequina EGCG com sobreposição do padrão da EGCG; (b) cromatograma DAD referente à amostra A (lote 1).54
- Figura 8** Ganho de peso (g) dos animais durante 17 semanas de consumo de dieta hiperlipídica (n= 30) e dieta normolipídica (n= 30).59
- Figura 9** Ganho de peso através do delta peso (%) dos animais durante 17 semanas de consumo de dieta hiperlipídica (n= 30) e dieta normolipídica (n= 30).59
- Figura 10** Consumo alimentar dos camundongos C57BL/6J durante 17 semanas de consumo de dieta hiperlipídica (n= 30) e dieta normolipídica (n= 30).....60
- Figura 11** Consumo hídrico de camundongos C57BL/6J durante 17 semanas de consumo de dieta hiperlipídica (n= 30) e dieta normolipídica (n= 30).61
- Figura 12** Ganho de peso entre os grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10

mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).....	62
Figura 13 Ganho de peso entre os grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).....	63
Figura 14 Consumo alimentar (g) entre grupos tratados com salina, sibutramina ou chá verde durante quatro semanas	64
Figura 15 Consumo alimentar (g) entre grupos tratados com salina, sibutramina ou chá verde durante quatro semanas.	64
Figura 16 Peso absoluto do fígado dos animais dos grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).	65
Figura 17 Peso absoluto dos tecidos adiposos (retroperitoneal, epididimal e perirrenal) dos animais nos grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).....	66
Figura 18 Peso absoluto do tecido muscular gastrocnêmico dos animais nos grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).....	67
Figura 19 Contagem total de células por esfregaço em lâmina. Foram identificados eosinófilos, neutrófilos e células mononucleares dos grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Composição das amostras de chá verde em cápsulas declarada no rótulo dos produtos e os respectivos prazos de validade	39
Tabela 2 Gradiente de eluição utilizando-se a coluna Phenomenex® C18 (250 x 4) mm, 5 µm, fase A: solução 0,1% de heptanossulfonato (p/v), fase C: acetonitrila e fluxo: 1mL/min.	42
Tabela 3 Condições operacionais do espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite para análise de As, Cd e Pb nas amostras de chá verde em cápsulas	43
Tabela 4 Programa Leaves and Vegetables do micro-ondas utilizado para a digestão das amostras.	44
Tabela 5 Composição das dietas padrão e hiperlipídica em g/Kg e Kcal.....	45
Tabela 6 Coeficiente de regressão	48
Tabela 7 Resultado de resíduos	48
Tabela 8 Valores em mg/g dos teores da catequina EGCG encontradas em diversas marcas de chás verdes comercializados em cápsula.	55
Tabela 9 Concentração de EGCG (mg/g) através da posologia informada por fabricante/dia em diferentes marcas e lotes de chás verdes.....	56
Tabela 10 Elemento, técnica, comprimento de onda, coeficiente de correlação (r), equação da reta e LQ para As, Cd e Pb.	57
Tabela 11 Dados de recuperação para amostras fortificadas com As, Cd e Pb.....	57
Tabela 12 Concentração (mg/Kg) dos elementos inorgânicos As, Cd e Pb nas amostras estudadas por GF AAS (n=2).	58
Tabela 13 Análise bioquímica entre os grupos dieta normolipídica, dieta hiperlipídica, dieta normolipídica + tratamento com sibutramina, dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina, dieta normolipídica + consumo de chá verde e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde.....	68
Tabela 14 Hemograma entre os grupos dieta normolipídica, dieta hiperlipídica, dieta normolipídica + tratamento com sibutramina, dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina, dieta normolipídica + consumo de chá verde e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde.....	69

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 Representação dos flavonoides presentes na infusão do chá verde	27
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3T3-L1 – linhagem de células adipócitas derivada de camundongos

ALT – alanina transaminase

ANVISA – agência nacional de vigilância sanitária

AP-1 - ativador proteico 1

AST – aspartato transaminase

BMP4 – proteína morfogênica óssea 4

BMP7 - proteína morfogênica óssea 7

C/EBP-alfa - fator de transcrição ativador de proteína ligadora alfa

CG - catequina

COMT - catecol-O-metil-transferase

COX-2 - enzima ciclo-oxigenase-2

CYP1A1 – citocromo P450 1A1

CYP3A4 - citocromo P450 3A4

DCNT – doenças crônicas não-transmissíveis

EC - epicatequina

ECG – epicatequina galato

EGC - epigalocatequina

EGCG – epigalocatequina-3-galato

EGFR - receptor do fator de crescimento epidérmico

ERGO – espécies reativas de oxigênio

GABA – ácido gama aminobutírico

GC – galato-catequina

GCG – galocatequina-3-galato

GH – hormônio do crescimento

GHS-R – secretagogo do hormônio do crescimento

GTP – chá verde

IL-6 – interleucina 6

IMC – índice de massa corporal

iNOS - óxido nítrico sintase induzível

IRF-1 – fator regulador de interferon 1

iTAM – tecido adiposo marrom induzível ou tecido adiposo bege

LD – limite de detecção

LQ – limite de quantificação

MCP-1 - proteína quimiotática de monócitos

MYF5 - fator miogênico-5

NA – noradrenalina

NFκB - fator nuclear kappa B

NMDA - receptor N-metil-D-aspartame

OMS – Organização Mundial da Saúde

PAI-1 - inibidor-1 do ativador do plasminogênio

PCR - proteína C reativa

PI3K - fosfoinositol-3-quinase

PNPIC - política nacional de práticas integrativas e complementares

POF – pesquisa de orçamentos familiares

PPAR-γ - receptor ativador da proliferação de peroxissoma gama

PRDM16 – PR 16 de zinco

PVC – policloreto de vinila

RDC – resolução da diretoria colegiada

sICAM - molécula de adesão intracelular solúvel

SNC – sistema nervoso central

SP-1 - fator de transcrição proteína de especificidade 1

STAT1- α - fator de ativador de transcrição 1 e transdutor de sinal alfa

TAB – tecido adiposo branco

TAM – tecido adiposo marrom

TGA - triacilglicerol

TNF α - fator de necrose tumoral alfa

UCP-1 – proteína desacopladora mitocondrial 1

VIGITEL – vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico

Um ladrão rouba um tesouro, mas não furta a inteligência. Uma crise destrói uma herança, mas não uma profissão. Não importa se você não tem dinheiro, você é uma pessoa rica, pois possui o maior de todos os capitais: a sua inteligência. Invista nela.

Estude!

Augusto Cury

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 Sobrepeso e obesidade – definições	16
1.2 Estado da obesidade no mundo desenvolvido e emergente	17
1.3 Aspectos do tecido adiposo	18
1.4 Aspectos fisiopatológicos e neuroendócrinos da obesidade	20
1.4.1 Visfatina	21
1.4.2 Vaspina	21
1.4.3 Omentina	22
1.4.4 Proteína Estimuladora de Acilação	22
1.4.5 Leptina	22
1.4.6 Adiponectina	23
1.4.7 Resistina	23
1.4.8 Grelina	24
1.5 Medicamentos para o tratamento da obesidade	25
1.6 Chá verde	26
1.6.1 Chá verde e seus compostos no estudo da obesidade	28
1.6.2 Epigallocatequina-3-galato (EGCG)	29
1.6.3 Chá verde e toxicidade	31
1.6.4 Elementos inorgânicos no chá verde	32
1.6.4.1 Cádmio	32
1.6.4.2 Chumbo	33
1.6.4.3 Arsênio	34
1.7 Vigilância sanitária	34
2 JUSTIFICATIVA	37
3 OBJETIVOS	3838
3.1 Objetivo geral	38
3.2 Objetivos específicos	38
4 METODOLOGIA	39
4.1 Amostragem	39
4.2 Avaliação da presença da catequina EGCG em amostras de chá verde em cápsula	40
4.2.1 Equipamentos	40

4.2.2 Materiais -----	40
4.2.3 Solventes -----	40
4.2.4 Preparo das amostras -----	41
4.2.5 Fase móvel -----	41
4.2.6 Procedimento analítico -----	41
4.3 Avaliação da presença de chumbo, cádmio e arsênico nas amostras de chá verde em cápsula -----	42
4.3.1 Equipamento e soluções -----	42
4.3.2 Limpeza da vidraria -----	43
4.3.3 Tratamento das amostras e procedimento analítico -----	44
4.3.4 Materiais e reagentes -----	45
4.4 Dietas -----	45
4.5 Ensaio de obesidade -----	46
4.6 Análise bioquímica -----	47
4.7 Análise estatística dos testes farmacológicos -----	47
5 RESULTADOS -----	48
5.1 Presença de egcg em chás verdes em cápsula por UPLC UV-Vis/DAD -----	48
5.2 Qualidade de chás verdes em cápsula quanto à presença de contaminantes inorgânicos por GFAAS -----	56
5.3 Ensaio da obesidade -----	58
5.3.1 Tratamento com chá verde em cápsula -----	61
6 DISCUSSÃO -----	71
6.1 EGCG -----	71
6.2 Contaminantes inorgânicos -----	72
6.3 Ensaio de obesidade -----	73
7 CONCLUSÃO -----	76
REFERÊNCIAS -----	77
ANEXO A – Leituras 1 e 2 das amostras de diferentes marcas e lotes de chá verde em cápsula através da técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência com detector UV-visível com arranjo de diodos -----	91
ANEXO B – Valores da média das concentrações para a curva de calibração em µg/mL da catequina EGCG obtidas através da técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência com detector UV-visível com arranjo de diodos -----	922

ANEXO C – Tabela de ganho de peso entre grupos dieta hiperlipídica e dieta normolipídica na primeira fase do estudo -----	933
ANEXO D – Tabela de peso corporal entre grupos dieta normolipídica e dieta hiperlipídica tratados com sibutramina e chá verde (10 mg/Kg) por 4 semanas -----	966

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sobrepeso e obesidade - definições

A obesidade é uma condição onde o acúmulo de tecido adiposo anormal ou excessivo implica no desenvolvimento de um estado inflamatório crônico que gera riscos à saúde, predispondo a morbidade e a mortalidade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015). Ela se manifesta a partir de um desequilíbrio no balanço energético, em que o excesso de calorias ingeridas leva ao gasto energético positivo; entretanto, esse balanço energético positivo pode sofrer influência de fatores ambientais, comportamentais, psicológicos e genéticos (LEITE; ROCHA E BRANDÃO-NETO, 2009).

Indivíduos obesos diferem dos demais pela distribuição regional de gordura no corpo que se localiza na região abdominal, também conhecida como gordura androide, muito comum em homens. Porém, quando presente em mulheres, eleva o risco para o desenvolvimento de complicações metabólicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

O Índice de Massa Corporal (IMC) foi proposto por Quetelej, em 1835, sendo expresso pelo peso em quilogramas do indivíduo dividido pelo quadrado da altura em metros. Apesar de identificar a obesidade, o IMC não é capaz de diferenciar a massa gorda da massa magra (PUGLIA, 2004), mas o diagnóstico da obesidade pode ser aprimorado através do uso de medidas como a circunferência de cintura. O IMC pode ser classificado em termos de sua gravidade, quando associada a outras doenças. Portanto, denomina-se sobrepeso quando o IMC encontra-se entre as faixas de 25 a 29,9 kg/m², obesidade de grau I quando a faixa de IMC está entre 30 a 34,9 kg/m², obesidade de grau II entre 35 e 39,9 kg/m², e obesidade de grau III ou obesidade mórbida quando o IMC for maior que 40 kg/m² (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2000). Conforme o aumento desses índices, maior é a probabilidade no desenvolvimento de doenças crônicas, como o diabetes, doenças cardiovasculares e câncer.

A incidência da obesidade no mundo mais que dobrou desde 1980, alcançando agora o *status* de Pandemia Mundial. Em 2014, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou que cerca de 39% da população adulta (1,9 bilhões de pessoas) estariam em estado de sobrepeso, e 13% (600 milhões de pessoas) seriam diagnosticadas em estado de obesidade instalada (MARTEL, 2016; DIAS, 2017), e estima-se que até 2025, cerca de 300 milhões de pessoas estarão em estado de obesidade instalada (LEÃO e SANTOS, 2012). Em países emergentes, o

aumento do sobrepeso e da obesidade em crianças foi 30% maior quando comparado a países desenvolvidos (WANNMACHER, 2016).

1.2 Estado da obesidade no mundo desenvolvido e emergente

A obesidade é uma doença comum em países desenvolvidos como Estados Unidos da América, Canadá, Austrália, Alemanha, Inglaterra. Nos Estados Unidos e na Grã-Bretanha, a obesidade tem crescido de forma desordenada, alcançando mais da metade da população. E o impacto social e emocional decorrente dessa doença são severos, podendo levar a uma paralisia na economia devido aos enormes gastos provenientes dos cofres públicos que excedem à 100 bilhões de dólares por ano, acarretando em queda na produtividade e aumento de gastos com a saúde pública (SELLAYAH, CAGAMPANG, COX, 2014).

No Brasil, a obesidade tornou-se um problema de saúde pública com gastos em cerca de 1,5 bilhões de reais por ano. Contudo, desse valor, 600 milhões de reais são provenientes do Governo para o Sistema Único de Saúde (LEITE; ROCHA E BRANDÃO-NETO, 2009 e ANJOS, 2006).

Em 2008-2009 foi realizada a última Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), indicando que a obesidade já atingia cerca de 14,8% da população brasileira maior de 18 anos, onde 12,5% dessa população acometida eram do gênero masculino, seguido pelo gênero feminino 16,9% em todo o país (BRASIL, 2010a). Atualmente, segundo dados da última Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças por Inquérito Telefônico (VIGITEL) de 2016, a frequência de adultos com excesso de peso no Brasil sofreu uma variação de 47% a 66% em diversas capitais, como Rio Branco (65,8%), Cuiabá (62,1%) e Porto Alegre (62,1%). Sendo a menor frequência de excesso de peso encontrada na cidade de Palmas (41,7%), e na cidade de Florianópolis (42,1%). Em relação à obesidade, a frequência da doença apresentou maior prevalência na cidade de Rio Branco (24,8%), seguida das cidades de João Pessoa (23,8%) e Maceió (22,5%), sendo as menores frequências da doença encontradas nas cidades de Goiânia (14,5%), Florianópolis (14,1%) e em São Luís do Maranhão (12,5%) (BRASIL, 2017).

Esses estudos mostram que a prevalência da desnutrição no Brasil teve um declínio nas últimas décadas, enquanto houve um aumento do sobrepeso e da obesidade, principalmente entre adultos. A prevalência aumentou em quase três vezes entre o gênero masculino, atingindo 50,1% para sobrepeso, e 18,5% para obesidade, e em quase duas vezes entre o gênero feminino, onde 48% da população feminina apresentava sobrepeso e 28,7%

obesidade. A transição do estado nutricional de desnutrição para a obesidade na população brasileira deve-se em virtude de mudanças econômicas, sociais e demográficas decorrentes do processo de modernização mundial (WANDERLEY e FERREIRA, 2010).

As mudanças econômicas e o processo de modernização mundial, principalmente no ramo alimentício levaram a população a mudar os hábitos alimentares, de forma que o consumo de alimentos industrializados teve um aumento de 216%, seguido de queda em cerca de 40% em itens básicos da dieta brasileira como arroz, feijão e frango. Com isso, identificou-se uma insuficiência no consumo de frutas, legumes e verduras em todos os segmentos populacionais, e a deficiência no consumo desses alimentos básicos da dieta brasileira, acarretou na deficiência de determinados micronutrientes o que soma com o problema de saúde global que atinge cerca de 2 bilhões de pessoas no mundo. Leão e Santos (2012) mostram que a ingestão insuficiente de micronutrientes, assim como de compostos bioativos está entre os dez principais fatores de risco para o desenvolvimento de doenças, como a obesidade, e o terceiro fator de risco prevenível de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) como o diabetes tipo II (LEÃO e SANTOS, 2012).

1.3 Aspectos do tecido adiposo

A obesidade é considerada um processo patológico e inflamatório de causas multifatoriais e poligênica (HERRERA e LINDGREN, 2010), e o excesso de peso é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de DCNT. Estudos mostram que a obesidade está associada a um maior risco de desenvolvimento de várias doenças metabólicas como o *diabetes mellitus* tipo II, doença cardiovascular, acidente vascular encefálico, câncer, doenças respiratórias, osteoartrite, vários tipos de câncer (MARTEL, 2016; OLIVEIRA, 2013), dislipidemias secundárias e hepatite não-alcoólica (GIORDANO, FRONTINI e CINTI, 2016).

O tecido adiposo é um tecido conjuntivo composto por diferentes tipos celulares como adipócitos, células endoteliais, macrófagos, células do estroma vascular, fibroblastos, pré-adipócitos e histiócitos, sendo o maior tecido de estocagem de energia na forma de triacilglicerol (TGA), e tem como funções: modelar a superfície corporal, participação no processo de isolamento térmico do organismo, preenchimento de espaços intersticiais, formação de coxins absorventes de choques, além de atuar como glândula endócrina (POULOS; HAUSMAN e HAUSMAN, 2010; ROSEN e SPIEGELMAN, 2006). Ele é dividido em três subtipos de tecido: tecido adiposo branco (TAB), tecido adiposo bege ou

tecido adiposo marrom induzido (iTAM) e tecido adiposo marrom (TAM) (HARMS e SEALE, 2013).

O TAM é ricamente vascularizado associado a presença de mitocôndrias em seu citoplasma (adipócitos marrons) ricas em citocromo oxidase, além da presença de proteína desacopladora-1 (UCP-1) que estão associadas com a produção de calor através de gradientes eletroquímicos que leva a síntese de ATP, estimulando a atividade da cadeia respiratória (HARMS e SEALE, 2013). Em animais como ratos e camundongos, o TAM está localizado na área interescapular e nas axilas dos animais, e em humanos está presente na região da traqueia próximo à tireoide, mediastino, paracervical e supraclavicular (VIJGEN, 2011; LEE, 2011).

A ativação do TAM promove o aumento do gasto calórico, reduzindo a adiposidade e protegendo o organismo contra a obesidade induzida por dieta. Tanto a presença quanto o papel do TAM em humanos é controversa, em achados mais recentes, observou-se que a ativação desse tipo de tecido é um alvo promissor no tratamento contra a obesidade. Giordano, Frontini e Cinti (2016) mostraram que após a exposição crônica ao frio ou a estimulação de adrenoreceptor-3- β , o tecido adiposo branco torna-se amarronzado, sendo esse fenômeno derivado da expressão de UCP-1 em adipócitos brancos multiloculares que também podem ser convertidos a adipócitos amarronzados com a prática de exercícios físicos (GIORDANO, FRONTINI e CINTI, 2016).

A presença de UCP-1 também é encontrada em adipócitos do TAB, contudo, pela presença de ação termogênica, esse tecido é caracterizado como iTAM ou tecido adiposo marrom recrutável. Similar ao TAM encontrado em camundongos, o iTAM é definido por seu conteúdo lipídico com presença de mitocôndrias e a expressão de genes específicos como a UCP-1 e *Pgc1 α* (gene codificador do receptor de proliferação-ativada de peroxissoma- γ coativador de 1- α). Apesar de ser um tecido que exerce função de termogênese, os adipócitos do iTAM são provenientes de estágios embrionários diferentes. Além disso, ele expressa genes que respondem a ativadores agonistas de receptores β -adrenérgicos ou a expressão do receptor ativador da proliferação de peroxissoma gama (PPAR- γ) (HARMS e SEALE, 2013).

Adipócitos *beiges* são originários tanto de adipócitos brancos quanto de adipócitos marrons por diferenciação de células precursoras. Estima-se que essas células não são derivadas de um único fator miogênico-5 (MYF5); entretanto, precursores positivos foram sugeridos a darem origem aos adipócitos típicos interescapulares e perirenal. Eles são altamente sensíveis a diferentes estímulos como a presença de proteína morfogênica óssea-7 (BMP7), irisina, fator de crescimento 21 de fibroblastos, e BMP4 (GIORDANO, FRONTINI

e CINTI, 2016). Com isso, diversas moléculas foram recentemente identificadas como alvos na terapia de adipócitos *beiges* (iTAM). Essas moléculas-alvo identificadas são a CCAAT/enhancer-binding proteína-beta (C/EBP β) e a proteína domínio PR-16 de zinco (PRDM16). Tanto agonistas quanto antagonistas desses inibidores podem ser úteis no desenvolvimento de novos fármacos para tratar a obesidade (GIORDANO, FRONTINI e CINTI, 2016). E a transcrição do fator C/EBP β é considerado um regulador chave para a expressão de genes envolvidos com a termogênese para o fenótipo marrom (TAM).

Em contrapartida, o adipócito maduro presente no TAB tem a capacidade de estocar energia na forma de TGA através dos processos de lipogênese e lipólise, ocupando cerca de 90% do seu citoplasma, restringindo ao núcleo uma fina camada na célula. O TAB é composto por células do sistema imune, tecido conjuntivo, tecido nervoso e vascular, e localiza-se nas regiões subcutânea e visceral (FONSECA-ALANIZ, 2006).

1.4 Aspectos fisiopatológicos e neuroendócrinos da obesidade

O acúmulo crônico de tecido adiposo leva a um estado pró-inflamatório que favorece ao desequilíbrio do estado redox levando ao estímulo do estresse oxidativo. O estresse oxidativo consiste no desbalanço entre oxidantes e antioxidantes a favor dos oxidantes, acarretando no rompimento da sinalização celular e controle molecular (KOPELMAN, 2000). Com isso, acredita-se que o quadro instalado de obesidade esteja relacionado com um quadro de inflamação crônica de baixa intensidade que por sua vez, intensificando esse estresse oxidativo, leva à produção de mediadores pró-inflamatórios gerados pela ação dos radicais livres, como a enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS), proteína C reativa (PCR), fator de transformação do crescimento beta (TGF- β), proteína quimiotática de monócitos (MCP-1), molécula de adesão intracelular solúvel (sICAM), angiotensinogênio (AGT), interleucina 6 (IL-6), inibidor-1 do ativador do plasminogênio (PAI-1) fator nuclear kappa B (NF- κ B) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), proporcionando a transcrição gênica dessas proteínas e modulando a resposta insulínica (FERRANTE, 2007). Sabe-se que o aumento da concentração plasmática de PAI-1, principal inibidor da fibrinólise, está associado com a presença de obesidade visceral (BASTOS; ROGERO e ARÊAS, 2009). Apesar de ser reconhecido como um órgão de estoque, o tecido adiposo nos últimos anos, passou a ser considerado um tecido endócrino metabolicamente ativo com a habilidade de expressar e secretar substâncias bioativas relacionadas ao processo metabólico, imune e neuroendócrino como as adipocinas ou adipocitocinas (FONSECA-ALANIZ, 2006; CHAVES, 2016).

A primeira adipocina relatada foi a lipoproteína lipase (LLP) responsável pela hidrólise de triglicérides circulantes, e posteriormente, novas adipocinas foram descobertas e agrupadas em categorias funcionais distintas (LEITE; ROCHA e BRANDÃO-NETO, 2009). A visfatina, apelina, vaspina e a omentina são adipocinas que também estão relacionadas com a obesidade, assim como a adiposina e algumas proteínas do sistema complemento como a proteína C3 e fator B (GUIMARÃES, 2007).

1.4.1 Visfatina

A visfatina foi descoberta como um fator de estimulação de colônias de células pré- β (PBEF) ou nicotinamida fosforibosiltransferase (NAMPT) com função de fator de crescimento em estágio inicial de células B, tendo sua expressão exercida, majoritariamente, por macrófagos que promovem a síntese e a liberação de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-8 e a metaloproteinase-9 (MMP9) ativada por monócitos (YUN, 2014). Ela tem a capacidade de minimizar a resistência insulínica, pois a visfatina possuem afinidade pelo receptor de insulina (IRS-1), assim como a própria insulina; entretanto seus sítios de ligação no receptor são diferentes (ANTUNA-PUENTE, 2008). Seu nível plasmático não altera em períodos de jejum ou pós-prandiais, mantendo-se sempre em níveis inferiores aos da insulina plasmática e sua proporção dá-se a quantidade de TAB visceral (LEITE; ROCHA e BRANDÃO-NETO, 2009).

1.4.2 Vaspina

A vaspina é uma adipocina membro da família serpina protease inibidora (serpina A12) expressa pelo tecido adiposo visceral sendo estimulada com a instalação da obesidade em ratos e humanos. A vaspina é capaz de aumentar a resistência insulínica e a tolerância aos carboidratos quando injetada em camundongos submetidos à obesidade induzida por dieta (ANTUNA-PUENTE, 2008). Entretanto, a vaspina é capaz de interferir no consumo alimentar, reduzindo o estímulo à fome, assim como é capaz de baixar os níveis de glicose pós-prandial em camundongos através da redução do neuropeptídeo-Y (NPY), e pelo aumento na expressão de pró-opiomelanocortina (POMC). Algumas linhas de evidência demonstram que a vaspina é capaz de proteger células endoteliais da inflamação e apoptose (HEIKER, 2014).

1.4.3 Omentina

A omentina é um peptídeo com 313 aminoácidos que é expressa, em maiores concentrações, através do TAB visceral, sendo pouco expressada pelo tecido adiposo subcutâneo. Está relacionada com a resistência insulínica e a obesidade, assim como as variáveis leptina, IMC, circunferência abdominal e índice HOMA. Contudo, a omentina tem relação positiva com a adiponectina e o HDL, indicando que conforme a perda gradual de peso, maiores serão os níveis circulantes dessa adipocina, melhorando a sensibilidade à insulina (LEITE; ROCHA e BRANDÃO-NETO, 2009).

1.4.4 Proteína Estimuladora de Acilação

A proteína estimuladora de acilação (ASP) é uma adipocina derivada da interação dos compostos do sistema complemento como C3, fator B e adiposina. Ela é um estimulante da síntese e da acumulação de triacilglicerol, e acredita-se que ela está envolvida com a ativação do transporte de glicose e inibição de lipólise (GUIMARÃES, 2007).

1.4.5 Leptina

Após a descoberta de Friedman em 1994 da leptina, um hormônio produzido por adipócitos que agem a nível do sistema nervoso central (SNC) sobre o metabolismo energético, o tecido adiposo deixou de ser considerado um tecido que cuja função era de estoque energético e proteção contra agressões mecânicas, passando a ser considerado, também, como um órgão endócrino (ZHANG, 1994). A leptina possui nível circulante proporcional à adiposidade corporal, com regulação através do estado nutricional do indivíduo. Tem ação lenta, sendo liberada na corrente sanguínea, onde exerce efeito inibitório na ingestão alimentar, aumenta o gasto energético (FRIEDMAN, 2002), possui relação com a termogênese e oxidação de ácidos graxos, além de exercer efeito na captação da glicose pela célula. Em contrapartida, em estado de jejum, os níveis de leptina caem, levando ao aumento do apetite, o que decorre na limitação da termogênese (WILASCO, 2010).

A leptina é composta por 167 aminoácidos, sendo 21 aminoácidos encontrados em seu peptídeo terminal. Sua estrutura a classifica como da família das citocinas, sendo produzida por adipócitos diferenciados, embora seja encontrada em outros tecidos (WILASCO, 2010). A leptina atravessa a barreira hematoencefálica, e no hipotálamo, age no núcleo arqueado do

hipotálamo (ARC) que contém duas populações diferentes de neurônios responsivos que expressam o neurotransmissor Y com função orexígena, e os que expressam o neurotransmissor POMC e transcrito e regulado pela cocaína e anfetamina (CART) com função anorexígena. Ela tem papel essencial sobre os sistemas imunológico, hematopoiético e cardiovascular (ROMERO e ZANESCO, 2006).

Ao contrário do que é relatado em modelos murinos, a obesidade em humanos associa-se a um quadro de resistência à leptina devido à perda de seu papel regulador, deixando de exercer a influência sobre o controle do apetite via hipotálamo; essa resistência leva a uma baixa ativação de STAT-3. Dentre os seis receptores conhecidos da leptina (ob-Ra, ob-Rb, ob-Rc, ob-Rd, ob-Re e ob-Rf), o receptor ob-Rb é o que possui a forma longa, com um número maior de aminoácidos, sinalizando a via rota Janus Quinase-Transdutores de Sinal e Ativadores de Transcrição (JAK-STAT). Quando ocorre a resistência a leptina, a exposição a ela induz a expressão do sinalizador da supressão da citocina-3 (SOCS3) que é capaz de inibir a sinalização do receptor de leptina, inibindo a estimulação da mesma pela rota JAK-STAT (WILASCO, 2010; HOWARD, 2004).

1.4.6 Adiponectina

A adiponectina, também produzida pelo tecido adiposo perivascular, tem ação parácrina e autócrina, destacando a regulação no metabolismo da glicose e dos lipídeos apresentando ação vasodilatadora, assim como o óxido nítrico. Sua presença é capaz de proteger contra a hipertensão, além de possuir ação antiaterogênica que leva a redução da expressão de moléculas de adesão, inibindo a transformação de macrófagos maduros em células espumosas. Suas concentrações apresentam-se de forma inversa aos níveis de obesidade, resistência à insulina e desenvolvimento do diabetes tipo II (SAMPAIO, 2011).

1.4.7 Resistina

Com ação inversa à adiponectina, a resistina é uma adipocina pertencente à família de proteínas ricas em cisteína, e está relacionada ao metabolismo da glicose e aos processos inflamatórios (GUIMARÃES, 2007). Segundo Giraldez (2014), o desbalanço de outras adipocinas e da resistina durante o desenvolvimento da obesidade favoreceria a produção de partículas de LDL pequenas e densas, mais susceptíveis à oxidação. Contudo, não foi estabelecida em indivíduos magros a presença de expressão gênica da resistina; e no tecido

adiposo de indivíduos obesos, embora ela tenha sido identificada, não acharam correlação entre a sua expressão gênica e massa corporal, adiposidade e resistência à insulina, apesar de relatos que indicam que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica, assim como mutações no gene da leptina, estão associadas com elevadas concentrações circulantes de resistina (GUIMARÃES, 2007).

1.4.8 Grelina

A grelina, hormônio com característica orexígena, é produzido pelas células do fundo e corpo do estômago, e em menor quantidade pelas células do piloro, agindo diretamente sobre o aumento do apetite (CHEN, 2009). Embora a grelina seja sintetizada periféricamente, ela apresenta receptores específicos no sistema nervoso central (SNC). A grelina se liga ao seu receptor no núcleo arqueado do hipotálamo participando de processos neuroendócrinos controladores do apetite junto com a secreção do hormônio do crescimento (GH) (ROMERO e ZANESCO, 2006).

Kojima et al. (2001) identificaram e isolaram, a partir de extratos gástricos de ratos e de humanos, o ligante endógeno para o receptor do secretagogo do hormônio do crescimento (GHS-R), denominado grelina, estando este diretamente relacionado com o hormônio e secreção de GH. A grelina está presente nas formas acilada e desacilada onde seu terceiro aminoácido, a serina, sofre acilação, embora a forma desacilada circule no plasma sanguíneo em quantidades maiores compartilhando de algumas ações não endócrinas como o controle da proliferação celular e da adipogênese (WILASCO, 2010).

A produção de grelina no ARC induz a produção de uma pré-sinapse nos neurônios que expressam o NPY para liberá-los estimulando, assim, a ingestão alimentar. Esses neurônios produtores de grelina estimulam ao aumento das taxas de ácido gama-aminobutírico (GABA) que são capazes de modular a pós-sinapse a fim de liberar a POMC e CART exercendo função anorexígena. Então, a estimulação de NPY através da grelina inibe a liberação de GABA, resultando na expressão de POMC que estimula a produção do hormônio liberador da corticotrofina, sendo este relacionado com a produção e liberação do hormônio adrenocorticotrófico e de glicocorticoides. (SMITH, 2001; FEIGHNER, 1999). A secreção de grelina é elevada em estado de jejum prolongado, e imediatamente antes do horário das refeições habituais, e diminui no período pós-prandial, sendo um sinal inicial para o aumento do apetite (WILASCO, 2010).

1.5 Medicamentos para o tratamento da obesidade

Atualmente, existem inúmeros métodos e tratamentos para a obesidade que envolvem dieta, exercício, cirurgias e, frequentemente, farmacoterapia. O Brasil é um dos países que lideram o mercado mundial em consumo de anorexígenos (MASHIKO, 2008). Segundo Andriolo et al. (2012), em 2009 o país vendeu mais de 3 toneladas de anfepramona (dose diária recomendada entre 50 a 100 mg), 1,8 toneladas de sibutramina (dose diária recomendada entre 10 a 20 mg), 1 tonelada de femproporex (dose diária recomendada de 25 mg) e 2 quilos de mazindol (dose diária recomendada entre 1 a 3 mg) (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA, 2010).

A anfepramona, também conhecida como dietilpropiona, foi lançada no mercado mundial em 1958 com o objetivo de ser um medicamento supressor de apetite, porém sem os efeitos da estimulação a nível de SNC. Seus efeitos parecem ser mediados pela ação de neurônios dopaminérgicos (BRASIL, 2011).

O femproporex é um anorexígeno com estimulação central e simpaticomimético que possui efeitos similares a dextroanfetamina. Ele aumenta a liberação de neurotransmissores e inibe a recaptação de dopamina no hipotálamo lateral, centro da alimentação (BRASIL, 2011).

O mazindol é um supressor do apetite tricíclico, sendo considerado um imidazoisindol, que possui ação equivalente aos antidepressivos, inibindo a recaptação da serotonina e norepinefrina, além de inibir a dopamina. Possui atividade na inibição dos neurônios sensitivos à glicose levando à inibição de secreção gástrica, auxiliando na supressão do apetite (BRASIL, 2011).

A sibutramina é uma das drogas atuais mais utilizadas por indivíduos que visam a perda de peso. Sua efetividade na perda de peso está na capacidade de inibição na recaptação da serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT), desempenhando função via SNC no controle da liberação de alguns hormônios, regulação do ciclo circadiano, do sono e apetite e recepção neuronal de noradrenalina (OBERHOLZER, SCHOOR e BESTER, 2015).

O uso de medicamentos anorexígenos para o tratamento da obesidade e do sobrepeso podem apresentar contraindicações impossibilitando o uso dos mesmos devido a presença de outras doenças de origem multicausal da obesidade, como a hipertensão arterial sistêmica e o *diabetes mellitus* tipo 2. Com isso, o emprego de plantas medicinais para o tratamento das

causas da obesidade tem crescido nos últimos anos como uma forma mais segura no auxílio do tratamento desta doença (MONEGO, 1996).

1.6 Chá verde

Camellia sinensis (L.) Kuntze é uma planta herbácea que pertence à família das Theaceae (EUROPEAN UNION, 2013) cujo produto de fermentação conhecido como chá é largamente consumido pelo mundo inteiro. A partir do período pós colheita da *Camellia sinensis*, e através do processo de fermentação, é que os diversos tipos de chás são obtidos, sendo que eles diferem entre si pelo sabor, odor, cor e composição dos compostos bioativos (MAZZANTI, DI SOTTO e VITALONE, 2015).

O termo fermentação relaciona-se ao processo de oxidação enzimática sofrido pelas folhas e brotos da *Camellia sinensis* para a inativação das polifenolases, seguidos de “enrolagem” (*rolling*) e secagem. Esse tratamento preserva os polifenóis encontrados naturalmente nas plantas frescas. Os tipos de chás mais conhecidos são o chá preto (fermentado), chá oolong (semi-fermentado) e o chá verde (não fermentado) (SAITO, 2007).

A popularidade do chá verde é atribuída à presença de compostos biologicamente ativos como flavonoides, catequinas, polifenóis alcaloides, vitaminas e sais minerais (SCHMITZ, 2005) que estão relacionadas na prevenção de doenças cardiovasculares e de diferentes tipos de câncer, apresentando ação anti-inflamatória, antialérgica, exercendo função no metabolismo de lipídeos, com principal atribuição no controle de peso corporal, efeito hipoglicemiante, e além de ter um potencial na prevenção de doenças neurológicas (ABOURASHED; ROBERSON e ELSHARKAWY, 2014).

Os principais flavonoides presentes nas folhas do chá verde são a quercetina, kaempferol, myricetina, apigenina e luteonina. Os principais polifenóis são o ácido clorogênico, ácido gálico e a teogalina, além de possuir mais de 19 aminoácidos que juntos com as catequinas formam os principais componentes químicos terapêuticos da *Camellia sinensis*, sendo conhecidos como potentes antioxidantes, capturando radicais livres (EUROPEAN UNION, 2013).

As catequinas são compostos coloridos, solúveis em água que doam ao chá o sabor adstringente e amargo (SHIXIAN, 2006). Estão presentes no chá verde nas formas de: epigalocatequina-3-galato (EGCG), galocatequina-3-galato (GCG), epigalocatequina (EGC), epicatequina-galato (ECG), epicatequina (EC), catequina-3-galato (CG) e galocatequina (GC), como pode ser observado no quadro 1. As catequinas do chá verde correspondem à 26,7% dos

compostos presentes no chá verde, das quais 11% são constituídos de EGCG, 10% de EGC, 2% de ECG, 2,5% de EC e 15% dos demais polifenóis (UEDA, 2010).

Quadro 1 - Representação dos flavonoides presentes na infusão do chá verde

Flavonoides na infusão de chá verde	Concentração (mg/100g)
Catequinas	2,85
Epicatequina (EC)	8,66
Epicatequina-galato (ECG)	21,96
Epigalocatequina (EGC)	16,72
Epigalocatequina-3-galato (EGCG)	88,32
Teaflavinas	0,07
Tearrubiginas	1,08

Fonte: (Adaptado de Hernandez-Figueroa, Rodriguez-Rodriguez e Sanches-Muniz, 2004).

O chá verde é um dos suplementos botânicos mais utilizados em todo o mundo, do qual a apresentação de seus produtos pode ser na forma de sachês, pós, bebidas, tabletes concentrados, cápsulas e formulações líquidas (ABOURASHED, 2014). Uma das apresentações industriais mais utilizadas são as cápsulas, cuja tecnologia tem sido utilizada por indústrias farmacêuticas e indústria de alimentos a fim de manter a estabilidade do produto (JAMES, 2016). A encapsulação envolve incorporação de alimentos, enzimas, células ou qualquer outro tipo de material em cápsulas, e sua aplicação tem aumentado devido à proteção adquirida do produto como proteção do calor e outras condições extremas, aumentando a estabilidade e a viabilidade do produto, além de promover o prolongamento da retenção gástrica pelo aumento da retenção causada pelas coberturas bio-adesivas que revestem o epitélio mucoso intestinal (OZVURAL, 2016).

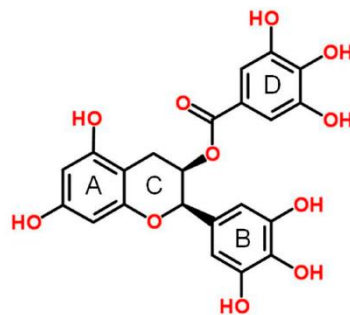
Estudos indicam que os níveis de catequinas presentes no plasma humano podem atingir seu pico de duas a quatro horas após a ingestão do chá, e que cerca de 70 a 80% das catequinas ingeridas passam para a circulação, sendo que 90% estão na forma metilada,

sulfatada ou conjugada com ácido glicurônico no fígado. A EGCG é excretada através da bile, enquanto que outras catequinas como a EGC e a EC são excretadas tanto via bile quanto através do trato urinário (SENGER; SCHWANKE e GOTTLIEB, 2010).

1.6.1 Chá verde e seus compostos no estudo da obesidade

A propriedade antioxidante do chá verde está relacionada à estrutura química das catequinas, sendo potencializada, principalmente, pela presença de radicais ligados aos anéis A, B e D (figura 1) e aos grupos hidroxila, dando a elas a capacidade de capturarem as espécies reativas de oxigênio (ERO) como a superóxido, peróxido de hidrogênio e o radical hidroxila, transferindo seus elétrons para eles, estabilizando-as e formando um radical menos reativo (JUN; ZHAO e ZHENG, 2017; SENGER; SCHWANKE e GOTTLIEB, 2010).

Figura 1 - Estrutura da catequina EGCG presente no chá verde com os radicais ligados aos anéis A, B e D que caracterizam a ação antioxidante da molécula.



(-)-Epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG)

Fonte: (Adaptado de JUN, ZHAO e ZHENG, 2017).

Dentre as diversas catequinas presentes no chá verde, a EGCG é a mais abundante, correspondendo a até 59% do total de catequinas (SENGER; SCHWANKE e GOTTLIEB, 2010), possui o maior potencial antioxidante, sendo considerada a substância mais ativa biologicamente (MAZZANTI, DI SOTTO e VITALONE, 2015), e está relacionada com a atenuação do PPAR- γ e CCAAT/enhancer ligadora de proteína (C/EBP- α) pela expressão dos sinais extracelulares reguladores de quinases, sinalizando o caminho que estimula ao aumento dos adipócitos. É capaz de inibir a absorção de lipídios provenientes da dieta pela formação de complexos com gorduras e enzimas, interferindo no processo de interesterificação, emulsificação, hidrólise e solubilização (KIM, 2008).

1.6.2 Epigallocatequina-3-galato (EGCG)

A fim de verificar se a principal catequina presente no chá verde, a EGCG promoveria a inibição da adipogênese e induziria a apoptose em adipócitos, Lin et al. (2005) incubaram pré-adipócitos maduros em diferentes tempos, e em diferentes concentrações de EGCG. Os resultados mostraram que a EGCG foi capaz de inibir a adipogênese e causou a apoptose em células adiposas maduras, além de estimular a regulação da expressão de adipocinas (LIU, 2006; WU, 2005). Esses achados foram sustentados por estudos *in vitro* que demonstraram a EGCG ser capaz de aumentar o consumo de oxigênio pelo tecido adiposo marrom (WANG, 2009), regulando a atividade e a expressão de várias enzimas, incluindo a acetil-CoA carboxilase (KU, 2014), glicerol-3-fosfato desidrogenase, lipase pancreática, lipo-oxigenase, lipase-hormônio sensível, monofosfato de adenosina (AMP) ativada, inibindo a diferenciação adipogênica em pré-adipócitos em adipócitos maduros, além de regular a captação de glicose pelos adipócitos (KU, 2014).

A EGCG é bioativada após sua conjugação com a cisteína na forma 2'-cisteinil-EGCG e 2''-cisteinil-EGCG. Esses metabólitos tem a capacidade de prevenir a liberação do ácido araquidônico e a produção de óxido nítrico sinalizando uma ação anti-inflamatória e atividade antioxidante (AFZAL; SAFER e MENON, 2015). Com isso, alguns mecanismos de ação da EGCG na prevenção da progressão de cânceres já foram descritos. Dentre eles, a ativação do fosfoinositol-3-quinase (PI3K) na via sinalizadora do câncer é conhecida por se ligar a EGCG por competição, inibindo e competindo pelo sítio de ligação para a ativação da sinalização via ATP/ AMPc no controle da multiplicação de células cancerígenas, designando ao EGCG a atividade anticancerígena. A EGCG também inibe proteínas específicas com expressão alterada em sinalização como o receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) e multiplicação celular nos estágios de G0 e G1 com aumento no estágio G2M (AFZAL; SAFER e MENON, 2015).

A EGCG tem efeito citotóxico em células cancerígenas do cólon com ação na inibição de DNA metil-transferases e de histonas diacetilases. Extratos do chá verde tem demonstrado proteção dopaminérgica e prevenção da depleção do *striatum* contra sintomas da doença de Parkinson que induzem a produção desta neurotoxina, protegendo a mitocôndria contra a toxicidade amiloide, além de melhorar a função do receptor N-metil-D-aspartame (NMDA) nos neurônios (AFZAL; SAFER e MENON, 2015).

Foi observado o efeito inibitório na expressão do TNF- α mediado pelo NF- κ B e pelo ativador proteico 1 (AP-1). Além disso, outros efeitos anti-inflamatórios como a pré-inibição

das enzimas da ciclo-oxigenase 2 (COX-2) e lipo-oxigenase do metabolismo do ácido araquidônico, assim como a inibição da formação de tromboxanos e 12-ácido-hidroxiheptadecatrienoico foram designados como ação do chá verde (SENGER; SCHWANKE e GOTTLIEB, 2010).

Estudos em humanos tem se mostrado bastante positivos acerca do papel da EGCG em relação ao controle e perda de peso corporal. Segundo Johnson, Bryant e Huntley (2012), o consumo de chá verde com cafeína foi capaz de diminuir, significativamente, o peso corporal e o IMC de adultos obesos quando comparado somente com o grupo controle de cafeína, porém sem mostrar eficácia na medida antropométrica da circunferência de quadril. De acordo com Huang et al. (2014), a suplementação por mais de 3 meses com extrato do chá verde é capaz de baixar os níveis de colesterol plasmático em pacientes obesos com IMC na faixa de 32,8 kg/m², em comparação ao grupo controle, associado a uma dieta com restrição calórica. Após 90 dias de suplementação com 300 mg de chá verde livre de cafeína associado a uma dieta de restrição calórica, houve uma notável redução na perda de peso em cerca de 9 kg com redução de IMC em 7% no grupo tratado com chá verde em relação ao grupo controle.

Senger, Schwanke & Gottlieb (2010) mostraram que a modulação de enzimas hepáticas de Fase I e Fase II, e da família citocromo P450 (CYP 1 e 2), após o consumo de chá verde, apresentaram suas atividades aumentadas através da incubação dos microsomos hepáticos ou citossólicos. Essas enzimas são capazes de diminuir o risco de câncer, além de aumentar a atividade enzimática CYP1A1, sugerindo, então a ação do chá verde como modulador hepático (SENGER; SCHWANKE e GOTTLIEB, 2010).

Apesar da presença de outras catequinas no chá verde, somente a EGCG mostrou-se eficaz na inibição da expressão de genes envolvidos na resposta inflamatória, processo esse dado pela indução da iNOS e a IRF-1. A incubação de células com EGCG leva ao decréscimo da fosforilação da transcrição do fator STAT-1 α da qual a ativação é necessária para a transcrição destes genes, enquanto os outros fatores como NF- κ B, SP-1 e AP-1 não são moduladas (TEDESCHI; SUZUKI e MENEGAZZI, 2002).

Esses autores indicam que a interação entre as catequinas e a cafeína presente nas folhas e brotos do chá liberam, através de via simpática, a noradrenalina (NA) responsável pelo efeito de termogênese no TAM. A ação das catequinas e da cafeína ocorre em diferentes pontos de controle do ciclo da NA e no AMP cíclico mediadas por efeitos sinérgicos, tendo então, a EGCG a capacidade de inibir o COMT (catecol-O-metil-transferase), uma enzima que degrada NA, portanto prolongando a ação simpática da mesma (WOLFRAM; WANG e

THIELECKE, 2006). O COMT está presente em vários tecidos ligados as membranas na sua forma solúvel. Como sua principal função é eliminar os compostos da NA, diminuindo a metilação hidrofílica e promovendo a sulfatação / glucoronidação que geralmente é necessária para a efetiva eliminação do organismo, ele modula a ação da NA, exercendo efeito termogênico, através da prolongação da ação de NA (SHIXIAN, 2006).

1.6.3 Chá verde e toxicidade

Estudos anteriores mostram que a catequina EGCG tem a capacidade de exercer efeito anti-adipogênico através da redução da viabilidade de pré adipócitos, induzindo a apoptose dessas células, entretanto, foi observado que essa atividade pode levar a um aumento do risco de citotoxicidade (LIN, 2005).

Segundo Lao et al. (2015), pré adipócitos incubados com as catequinas presentes no chá verde (1000 µg/ml) e com a EGCG (68 e 680 µg/mL) foram capazes de reduzir a viabilidade dos adipócitos 3T3-L1, indicando que quando há a administração de todas as catequinas juntas, elas são capazes de exercer menor atividade citotóxica quando comparada a administração isolada da EGCG para perda de peso corporal. E a fim de verificar a atividade não tóxica para perda de peso, os autores identificaram que as doses de GTP (10 µg/mL) e EGCG (6,8 µg/mL) foram capazes de impedir o acúmulo excessivo de lipídeo nos adipócitos 3T3-L1 a partir do décimo dia da diferenciação celular (LAO et al., 2015).

Estudos mostram que a hepatotoxicidade relacionada com o consumo do chá verde tem maior incidência em mulheres (84%) entre 24 e 63 anos de idade, e que a razão para o consumo da bebida é para a finalidade emagrecedora. Em 19 casos apontados com suspeita de hepatotoxicidade, 15 deles mostram que os pacientes apresentaram sintomas que requereram hospitalização como: icterícia, indisposição, fadiga, dor abdominal, náusea, vômito e febre. Com isso, investigações dos níveis das enzimas hepáticas mostraram que elas estavam acima do limite máximo, e o exame de biópsia hepática mostrou que na maioria dos casos observados, presenciou-se necrose tecidual (massiva, multifocal ou focal) com infiltrado inflamatório celular (MAZZANTI; Di SOTTO e VITALONE, 2015).

Bartels e Miller (2003), mostraram que o consumo diário de chá obtido a partir de 65g de folhas por 5 anos pode acarretar em disfunção hepática, problemas gastrointestinais e irritação gástrica, assim como na diminuição do apetite, insônia, nervosismo, hipertensão e taquicardia. Essas altas doses estão correlacionadas com a presença de cafeína na planta, com isso, é importante haver cautela no uso do chá. Já Sharma et al. (2008), demonstraram que o

uso do chá verde deve ser concomitante com o consumo alimentar, evitando a ingestão em horários de jejum, e o extrato consumido em doses acima do máximo recomendado (100 a 750 mg/dia) pode levar ao aparecimento de causas adversas, sendo o mesmo tóxico ao organismo.

1.6.4 Elementos inorgânicos no chá verde

Nos últimos tempos, o consumo de chás tem ganhado grande importância devido à reputação dos benefícios que essa bebida pode oferecer para a saúde humana. Entretanto, a presença de metais pesados nesses alimentos tornou-se uma das principais fontes de contaminação humana, podendo acarretar em riscos à saúde da população (VULCANO, SILVEIRA e ALVAREZ-LEITE, 2008).

A presença de contaminantes inorgânicos como o chumbo (Pb) e o cádmio (Cd) nos diversos tipos de chás ocorre devido a contaminação do solo por fertilizantes ou pela água de esgotos públicos e está relacionada à intensidade da irrigação do solo com água contaminada ou com o uso de fertilizantes e/ou herbicidas durante o plantio, e das partículas suspensas no ar, pois algumas espécies tem a capacidade de depositar em suas folhas metais como o Pb (HAN et al., 2006). Níveis elevados de contaminação por metais como o Pb e o Cd foram encontrados no sistema radicular e nas folhas de diversas plantas (VULCANO, SILVEIRA e ALVAREZ-LEITE, 2008).

Estudos mostram que a presença de metais pesados ou contaminantes inorgânicos está em maior concentração na primeira infusão da planta, sendo que nas seguintes infusões esta concentração está reduzida, sugerindo, então o descarte da primeira infusão a fim de reduzir o consumo desses elementos (LI et al., 2015). Segundo Janle et al., (2015) os polifenóis presentes no chá verde mostrou a capacidade de quelar elementos inorgânicos como o mercúrio, sendo este proveniente do consumo de peixes contaminados, impedindo sua absorção ou sua complexação com aminoácidos pelo organismo.

1.6.4.1 Cádmio

O cádmio ocorre naturalmente associado ao zinco, chumbo e ao cobre na natureza. Compostos de cádmio são utilizados em inúmeros produtos como estabilizadores de PVC, pigmentos de tintas, baterias de níquel, e, principalmente, em fertilizantes fosfatados que ao serem depositados no solo, sofrem acumulação através das vias superiores das plantas,

particularmente, quando o pH do solo está ácido, entrando na cadeia alimentar de todos os seres vivos, inclusive, de humanos (ZHAI, NARBAD e CHEN, 2015; JARUP, 2003). A exposição ao cádmio pode causar problemas renais, como disfunção renal tubular (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010a), pois quando absorvido, ele sofre deposição no fígado e nos rins devido à sua ligação com a metalotioneína, podendo levar à glicosúria, aminoacidúria, poliúria e redução do glicogênio hepático (TAVARES, 2013).

1.6.4.2 Chumbo

O chumbo é um metal tóxico cujo uso é amplamente difundido e está relacionado a extensivos problemas de contaminação do meio ambiente e exposição ocupacional. Após a absorção do Pb pelo organismo, ele interage com aminoácidos, resíduos de enxofre, e grupamentos de H_3PO_3 e NH_2 , para a formação de complexos que interferem nas funções hematopoiética, renal e no sistema nervoso (TAVARES, 2013; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010b). Sua concentração no solo e em plantas está relacionada a fundições de chumbo e minas, e com isso, cereais como arroz podem conter altas concentrações desse elemento, assim como os frutos, como as pimentas. A exposição ao metal pode levar a maiores efeitos adversos em crianças, quando comparada a adultos, pois a absorção pelo trato gastrointestinal é maior, sendo o chumbo capaz de fluir pela barreira hematoencefálica o que pode ocasionar em efeitos neurológicos; e em gestantes, o chumbo pode levar ao nascimento de prematuros, crianças com baixo peso ao nascer e em menor escala, a malformação congênita. A exposição crônica em adultos pode levar a efeitos hematológicos, letargia, convulsões, fraqueza muscular, ataxia, tremores e paralisia (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010b).

O Pb é capaz de afetar reações fotoquímicas e de carboxilação durante a fotossíntese, sendo esta considerada um dos processos metabólicos mais sensíveis à toxicidade pelo chumbo. Plantas expostas a este metal apresentam diminuição da taxa fotossintética, e como consequência, há a ruptura da organização do cloroplasto, inibição da síntese de clorofila, obstrução do transporte de elétrons, inibição da atividade de enzimas do ciclo de Calvin, como deficiência de CO_2 com o fechamento dos estômatos. Com isso, há desacoplamento da fosforilação oxidativa e diminuição da produção de ATP com a promoção do estresse oxidativo através da produção de espécies reativas de oxigênio que levam à alteração da atividade de enzimas antioxidantes (OLIVEIRA, 2012).

1.6.4.3 Arsênico

O arsênico é amplamente encontrado em rochas, solo, água e ar, e quando presente na forma solúvel inorgânica é altamente tóxico, cujo limite de exposição diária é de 15 µg/Kg dia (TAVARES, 2013). A ingestão de arsênico nas doses de 0,3 a 8 µg/Kg dia é capaz de aumentar os riscos em 1% para o desenvolvimento de cânceres de pulmão, pele e baço (GUNDERT-REMY et al., 2015), além de lesões na pele, neuropatia periférica, problemas gastrointestinais, diabetes, doença renal e doenças cardiovasculares. A contaminação por arsênico deve-se ao consumo de águas subterrâneas contendo altos níveis do metal, comidas preparadas e plantações irrigadas com águas fontes desse metal. Sua forma inorgânica é um dos maiores causadores de câncer (pele, pulmão, vesícula, fígado, próstata e rins) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2010c).

A toxicidade causada pela presença de elementos inorgânicos como As, Cd e Pb têm levantado questões de consciência com a saúde da população. O chumbo, cádmio e o arsênico são tóxicos para humanos, mesmo em baixas concentrações, e eles tem a capacidade de acumulação através da cadeia alimentar e baixa eliminação através das vias excretoras. Sendo assim, os limites máximos permitidos para esses elementos nos alimentos e em produtos de saúde devem ser fiscalizados e monitorados através do controle de qualidade desses produtos na sua comercialização (ANAL, 2014).

A preocupação em relação à segurança alimentar vem aumentando no mundo inteiro nos últimos anos (LI et al., 2015). Sendo assim, a legislação brasileira, segundo a ANVISA, dispôs em RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013, sobre os limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos, sendo os níveis estipulados para chá e outros vegetais para infusão de contaminantes como arsênico e chumbo de 0,6 mg/Kg e cádmio de 0,4 mg/Kg (BRASIL, 2013).

1.7 Vigilância sanitária

O chá é um alimento proveniente de partes de espécies vegetais como folhas, ramos, flores, frutos, raízes ou casca, e segundo a legislação sanitária federal, chás são definidos como “produtos constituídos de uma ou mais partes de espécie (s) vegetal (is) inteira (s), fragmentada (s) ou moída (s), com ou sem fermentação, tostada (s) ou não, constantes de Regulamento Técnico de Espécies de Vegetais para o Preparo de Chás”. (BRASIL, 2010b; BRASIL, 2005). Entretanto, existem outros tipos de apresentações farmacêuticas não

convencionais para chás, além da tradicional em sachês, que são apresentados em forma de cápsulas, tabletes, comprimidos ou similares.

Neste novo tipo de configuração como apresentações farmacêuticas não convencionais, os chás deverão ser classificados como “novo alimento”, e conseqüentemente, deverá atender aos requisitos previstos na RDC nº 16, de 30 de abril de 1999, onde exige-se o registro junto à Anvisa (BRASIL, 1999), pois são alimentos ou substâncias com histórico de consumo no país adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos atualmente observados nos alimentos utilizados numa dieta regular. Produtos constituídos por folhas do vegetal, moídas ou encapsuladas em invólucros gelatinosos, os quais na recomendação de uso seja recomendado a ingestão após a infusão aquosa, são produtos que não estão aprovados pela Anvisa, por ser considerada uma prática irregular, devido à alegação que o mesmo não contém obrigatoriedade de registro. Sendo assim, este tipo de produto não está previsto na legislação sanitária de alimentos (BRASIL, 2010b).

Nos rótulos de produtos com apresentações farmacêuticas não convencionais encontra-se a informação de que o mesmo, segundo a RDC nº 23, de 15 de março de 2000, que dispõe sobre o manual de procedimentos básicos para registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos pertinentes à área de alimentos (BRASIL, 2000), e a RDC nº 27, de 06 de agosto de 2010, que dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário, são isentos de registro, facilitando então, a comercialização destes no mercado consumidor (BRASIL, 2010c).

Entretanto, como estabelecido em legislação, alimentos descritos como chás são produtos que são dispensados da obrigatoriedade de registro, e alimentos descritos como “novo alimento ou novos ingredientes” (RDC nº 16, de 30 de abril de 1999), assim como “suplemento vitamínico e ou mineral” (RDC nº 18, de 27 de abril de 2010) são produtos que tem a necessidade de registro sanitário obrigatório (BRASIL, 2010b; BRASIL, 1999).

Desse modo, os chás verdes comercializados em cápsula são produtos que tiveram um aumento no seu consumo em todo o mundo devido à facilidade de ingestão e aquisição do mesmo, assim como devido às suas propriedades antioxidantes, que são conhecidas por atuarem no controle do metabolismo de lipídios, sendo um grande aliado na perda de peso corporal, mesmo que sem a comprovação da eficácia dos efeitos a ele atribuídos (MAZZANTI, Di SOTTO e VITALONE, 2015). Por conseqüência, é de extrema importância que produtos comercializados em formulações farmacêuticas como cápsulas e tabletes, ou outras formas farmacêuticas não convencionais, assegurem ao consumidor a qualidade do produto adquirido através de fiscalização sanitária e do controle de qualidade dos mesmos, a

fim de se prevenir possíveis riscos à saúde do consumidor (MAZZANTI; Di SOTTO e VITALONE, 2015).

2 JUSTIFICATIVA

O Brasil tem se preocupado em estabelecer diretrizes que objetivam o emprego de plantas medicinais ou de medicamentos que as contenham dentro de requisitos de segurança, considerando a política de medicamentos estabelecida com o uso racional de medicamentos (BRASIL, 1998). A Organização Mundial de Saúde tem expressado a sua posição em relação à necessidade de valorizar a utilização de plantas medicinais no âmbito sanitário (ações ou serviços autorizados pela Vigilância Sanitária). No Brasil, a aprovação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2006b) e do Decreto nº. 5813, de 22 de junho de 2006, que aprova a Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos e dá outras providências, são marcos de extrema importância para o estabelecimento do uso racional de medicamentos contendo drogas de origem vegetal e/ou de plantas medicinais (BRASIL 2006a; BRASIL, 1998).

A obesidade é uma doença metabólica que vem crescendo desde 1980, e estima-se que em 2030 ela possa alcançar mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo. Diante disso, tratamentos para a obesidade são desenvolvidos todos os anos a fim de se obter melhores tratamentos para a doença, de forma que haja menor recidiva da doença. Entretanto, esse tipo de tratamento ainda é caro, e muitas pessoas não tem acesso por falta de informação, por baixas condições socioeconômicas e devido a presença de doenças pré-existentes que impossibilitam o tratamento com esses fármacos. Com isso, tratamentos alternativos com o uso de plantas medicinais têm crescido em todo o mundo, e apesar desses produtos serem de origem vegetal, ainda assim, a má qualidade desse produto pode comprometer a eficácia do tratamento, assim como pode oferecer riscos à saúde do consumidor. Então, garantir a qualidade desse tipo de produto é de fundamental importância, bem como garantir e promover a segurança e a eficácia do mesmo para uso como tratamento alternativo e seguro da obesidade.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a eficácia de um produto comercial à base de chá verde comercializado em cápsula para o tratamento da obesidade.

3.2 Objetivos específicos

- Analisar a presença de EGCG em chás verdes comercializados em cápsula através da identificação e quantificação da catequina por cromatografia líquida de ultra eficiência com detector UV-visível com arranjo de diodos (UPLC UV-Vis/DAD);
- Avaliar a qualidade desses produtos quanto à presença de contaminantes inorgânicos como arsênico, cádmio e chumbo nas amostras de chá verde em cápsulas, por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite;
- Avaliar por meio de ensaio farmacológico a ação das cápsulas de chá verde como agente redutor de peso corporal em modelo de obesidade.

4 METODOLOGIA

4.1 Amostragem

Para o presente estudo foram adquiridas onze amostras (n=11) de diferentes lotes e marcas de produtos comercializados como chás verdes em cápsula (tabela 1). Esses produtos foram adquiridos através de web sites e lojas físicas de produtos naturais na Cidade do Rio de Janeiro no período de fevereiro a junho de 2016. As amostras analisadas nesse estudo apresentaram diferentes ingredientes na sua composição, sendo o principal, o chá verde (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze).

Tabela 1 - Composição das amostras de chá verde em cápsulas declarada no rótulo dos produtos e os respectivos prazos de validade

Marcas/Lotes	Ingredientes declarados em rótulo	Validade
A (lote 1)	<i>Camellia sinensis</i> L. Kuntze	04/2018
A (lote 2)	<i>Camellia sinensis</i> L. Kuntze	07/2017
A (lote 3)	<i>Camellia sinensis</i> L. Kuntze	11/2017
B (lote 1)	Vitamina C em pó. Extrato aromático de chá verde em pó (<i>Camellia sinensis</i>)	05/2018
B (lote 2)	Vitamina C em pó. Extrato aromático de chá verde em pó (<i>Camellia sinensis</i>)	02/2018
C (lote 1)	Acerola, extrato de chá verde (<i>Camellia sinensis</i> L Kuntze), ácido ascórbico, gelatina, amido de milho, vitamina A, vitamina E, selênio quelato, zinco quelato, picolinato de cromo, umectante glicerina	07/2018
C (lote 2)	Acerola, extrato de chá verde (<i>Camellia sinensis</i> L Kuntze), ácido ascórbico, gelatina, amido de milho, vitamina A, vitamina E, selênio quelato, zinco quelato, picolinato de cromo, umectante glicerina	12/2017
D (lote 1)	Extrato seco de chá verde, vitamina C, zinco quelato, manganês quelato, vitamina E, cobre quelato, selênio quelato, picolinato de cromo, vitamina B12.	02/2018
D (lote 2)	Extrato seco de chá verde, vitamina C, zinco quelato, manganês quelato, vitamina E, cobre quelato, selênio quelato, picolinato de cromo, vitamina B12.	11/2017
E	Maltodextrina, acerola, extrato de chá verde	02/2018
F	Acerola em pó solúvel, ácido ascórbico, chá verde (<i>Camellia sinensis</i>) em pó solúvel, amido, vitamina A, vitamina E, selenito de sódio, bisglicinato de sódio, picolinato de cromo, gelatina e umectante glicerina.	07/2017

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

4.2 Avaliação da presença da catequina egcg em amostras de chá verde em cápsula.

Determinação da catequina através do método de cromatografia líquida de ultra eficiência com detector de UV-visível com arranjo de diodos.

4.2.1 Equipamentos

Foram utilizadas nas análises balança analítica com resolução de 0,01 mg, fabricante OHAUS, modelo AV264CP; Cromatógrafo Líquido de Ultra Eficiência Ultimate® 3000, fabricante Thermo Scientific Dionex com detector UV-VIS com Arranjo de Diodos (CLUE/UV-VIS-DAD); Banho ultrassônico, fabricante Unique; modelo UltraSonic Cleaner; Sistema de purificação de água Milli-Q, fabricante Milipore modelo Direct-Q; pHmetro, fabricante Micronal modelo B – 474; Equipamento da marca Thermo Scientific, modelo NICOLET 6700 FT-IR, o qual possui o sistema de análise de amostras por ATR (Attenuated Total Reflectance); e Centrífuga refrigerada 5804R (Eppendorf, EUA).

4.2.2 Materiais

Os materiais utilizados no preparo das amostras e das soluções de trabalho foram: provetas, balões volumétricos, erlenmeyer, pipetas automáticas, ponteiras, tubos de ensaio, microtubos, pipetas Pasteur, vials de 2 mL, tampas de rosca para vial e inserts.

Coluna Phenomenex C18 (250 x 4) mm, 5 µm. Fabricante: Phenomenex®.

A catequina majoritária do chá verde EGCG ($\geq 95\%$ purificada) foi adquirida através da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO) e foi utilizada como marcador bioquímico positivo das amostras de chá verde em cápsula.

4.2.3 Solventes

Todos os solventes utilizados foram grau CLAE. Heptano-1 sulfonato de sódio, marca: VETEC®, lote: 0603285; ácido acético, marca: MERCK®, lote: K45841563; 2-propanol, marca: MERCK®, lote: K27802734 021.

4.2.4 Preparo das amostras

O preparo das amostras fora realizado de acordo com Santos (2017). Foram utilizadas amostras em cápsula de chá verde, sendo seu conteúdo pesado em balança analítica para a quantidade de pó referente à 2 g. Após a etapa da pesagem, cada uma das amostras de chá verde em cápsula foi adicionada em cada tubo falcon de 50 mL, aproximadamente, 5 mL de H₂O: Isopropanol (50:50 v/v), esse procedimento foi repetido para cada uma das amostras analisadas. Os tubos falcon de 50 mL com as amostras em H₂O: Isopropanol (50:50 v/v) foram para o banho de ultrassom por 30 minutos. Após a retirada das amostras do ultrassom, as mesmas foram centrifugadas a 4 °C, 5000 rpm por 5 min, filtradas e transferiu-se 1 mL da solução de cada amostra para os vials e foram analisadas no UPLC-UV/Vis-DAD. O volume da injeção da amostra foi de 1 µL. A solução resultante foi estocada em geladeira com temperatura inferior a 8°C. Foram preparadas soluções da amostra padrão da EGCG em 10, 20, 30 e 100 µg/mL.

4.2.5 Fase móvel

Em uma proveta de 2 L foram adicionadas 2 de heptano-1 sulfonato de sódio e 4 mL de ácido acético anidro completando-se o volume com água Milli-Q, obtendo-se uma solução de heptano-1 sulfonato de sódio 0,1% (p/v), e verificou-se através do pHmetro que o pH da fase móvel era de 3,55.

4.2.6 Procedimento analítico

Considerando as amostras para trabalho tornou-se necessário realizar a caracterização desses materiais para o uso no trabalho qualitativo. A técnica de caracterização foi a absorção no ultravioleta (UV). As soluções de cada amostra foram preparadas a 10, 20, 30 e 100 µg/mL, sendo estas analisadas no cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector UV/Vis-DAD para a avaliação do perfil cromatográfico e tempo de retenção (t_R), utilizando-se a coluna Phenomenex®, citada na seção 4.2.2, e o gradiente de eluição descrito na tabela 2, sendo a fase A uma solução de heptanossulfonato 0,1% (p/v) e a fase C acetonitrila.

Tabela 2 - Gradiente de eluição utilizando-se a coluna Phenomenex® C18 (250 x 4) mm, 5 µm, fase A: solução 0,1% de heptanossulfonato (p/v), fase C: acetonitrila e fluxo: 1mL/min.

Tempo (min)	%A	%C
0	95	5
25	60	40
25,5	0	100
35	0	100
35,5	95	5
45	95	5

Fonte: (SANTOS, J.R.M.P. 2017)

4.3 Avaliação da presença de chumbo, cádmio e arsênico nas amostras de chá verde em cápsula

4.3.1 Equipamento e soluções

A determinação de arsênico, cádmio e chumbo foi realizada em um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (PinAAcle 900Z, da Perkin Elmer) equipado com auto amostrador (AS 900). O equipamento possui um tubo de grafite recoberto piroliticamente e plataforma de L'Vov integrada com aquecimento transversal, correção do sinal de fundo baseado no Efeito Zeeman e campo magnético aplicado 0,8 T. O volume de amostra introduzido no tubo de grafite através do auto amostrador foi de 20 µL e o volume dos modificadores químicos ($Mg(NO_3)_2$ e $Pd(NO_3)_2$) foram de 5 µL. A determinação das concentrações de As, Cd e Pb das amostras foi feita por interpolação gráfica após a construção das curvas de calibração de cada elemento. Os padrões analíticos de arsênico, cádmio e chumbo usados nas curvas de calibração foram preparados a partir da diluição de soluções estoque de 1000 mg/L (Sigma-Aldrich, EUA) e foi adicionado 1% (v/v) de HNO_3 , usado como conservante. Uma solução de HNO_3 à 1% (v/v) foi preparada e utilizada como branco da curva de calibração. As condições operacionais do equipamento estão descritas na tabela 3 (SANTOS, 2008).

Tabela 3 - Condições operacionais do espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite para análise de As, Cd e Pb nas amostras de chá verde em cápsulas

Parâmetro	As	Cd	Pb
Comprimento de onda	193,7 nm	228,8 nm	283,3 nm
Fenda	0,7 nm	0,7 nm	0,7 nm
Corrente da Lâmpada	380 mA	240 mA	380 mA
Temperatura de pirólise	1200°C	750°C	850°C
Temperatura de atomização	2300°C	1500°C	1600°C
Tempo de leitura	5 s	5 s	5 s
Faixa de Trabalho	2-20 µg/L	0,5-5 µg/L	5-50 µg/L
Leitura	Área do pico	Área do pico	Área do pico
Modificador químico	1 g/L Pd(NO ₃) ₂ + 0,6 g/L Mg(NO ₃) ₂	1% NH ₄ H ₂ PO ₄ + 0,06 mg/L Mg(NO ₃) ₂	1% NH ₄ H ₂ PO ₄ + 0,06 mg/L Mg(NO ₃) ₂
Lâmpada	EDL	EDL	EDL

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

A performance analítica do método foi avaliada a cada batelada de análise, através do estudo de recuperação, onde foi adicionado uma quantidade conhecida dos elementos de interesse numa amostra controle. O limite de quantificação (LQ) foi determinado como 10 vezes o desvio padrão do branco (n=10).

4.3.2 Limpeza da vidraria

Toda vidraria e todo material utilizado, durante as análises, foram deixados imersos durante 24 horas em ácido nítrico à 18%; posteriormente, o material foi enxaguado com água deionizada. Após o processo de lavagem, o material foi deixado secando à temperatura ambiente.

4.3.3 Tratamento das amostras e procedimento analítico

Aproximadamente 0,5 g das amostras de chá verde foram pesadas utilizando uma balança analítica (AG Toledo 240) com precisão de 0,0001 g. Todo material pesado foi transferido para tubos de teflon com adição de 2,0 mL de ácido nítrico concentrado (p/v) (HNO_3) à 65% (Merck, Alemanha), 1 mL de peróxido de hidrogênio à 30% (H_2O_2) e 2 mL de água deionizada (Millipore, Brasil). Todas as amostras foram feitas em duplicata. O branco foi preparado com água deionizada, HNO_3 e H_2O_2 nas mesmas quantidades usadas para digestão das amostras. Em seguida, as amostras e o branco foram digeridos em forno de micro-ondas modelo SpeedWave (Berghorf, Alemanha). O programa utilizado foi *Leaves and Vegetables* pré-programada pelo equipamento (tabela 4). Ao final da digestão, as amostras e o branco foram transferidos quantitativamente para tubos Falcon de 25 mL completando-se o volume com água deionizada (Milli-Q).

Todas as amostras, soluções padrão e soluções dos reagentes foram preparadas usando água ultrapura, deionizada em sistema de purificação Milli-Q (Millipore). Os reagentes foram adquiridos da empresa Merck (Alemanha) e utilizados dentro dos respectivos prazos de validade.

Tabela 4 - Programa Leaves and Vegetables do micro-ondas utilizado para a digestão das amostras.

Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Ramp	Tempo (min)	Potência (W)
170	50	5	10	90
200	50	1	15	90
50	0	1	10	0
50	0	1	10	0
50	0	1	1	0

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

4.3.4 Materiais e reagentes

- Frascos de polipropileno;
- Balão volumétrico;
- Funil de vidro;
- Pipeta volumétrica;
- Ácido Nítrico 65% Suprapur® - Merck;
- Padrão As 1000 mg/ L - Merck;
- Padrão Cd 1000 mg/L - Sigma - Aldrich;
- Padrão Pb 1000 mg/L - Sigma - Aldrich;
- Modificador Mg(NO₃)₂ 10 g/L - Perkin Elmer;
- Modificador Pd(NO₃)₂ 10 g/L - Perkin Elmer.

4.4 Dietas

Dois tipos de dietas foram utilizados neste estudo: uma dieta padrão ou normolipídica, e uma dieta hiperlipídica para indução da obesidade durante 17 semanas. As dietas foram adquiridas comercialmente pela PragSoluções (Jaú – SP, Brasil), cujas composições dietéticas encontram-se na tabela 5.

Tabela 5 - Composição das dietas padrão e hiperlipídica em g/Kg e Kcal.

Ingredientes	Dieta normolipídica		Dieta hiperlipídica	
Amido de Milho	415g	1660	143g	572
Caseína	200g	800	200g	800
Amido dextrinizado	70g	280	70g	280
Sacarose	80g	320	80g	320
Óleo de soja	70g	630	50g	450
Celulose microcristalina	50g	0	50g	0
Mix mineral AIN 93G	34,90g	0	35g	0
Mix vitamina AIN 93	10g	40	10g	40
L cistina	3g	12	3g	12
Bitartarato de colina	0,61g	0	2,5g	0
Farelo de soja	64,5g	258	54,5g	218
BHT	0,014g	0	0,05g	0
Banha	0g	0	302g	2.718,00
Total	998,024 g	4000 kcal	1000,5 g	5.410,00 kcal

Dieta padrão: 565g de carboidratos (56,5%); 264,5g de proteína (26,45%) e 70g de lipídeos (15,75%).

Dieta hiperlipídica: 293g de carboidratos (21,66%); 254,5g de proteínas (18,81%) e 352g de lipídeos (58%)

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

4.5 Ensaio de obesidade

Foram utilizados no estudo 60 camundongos machos da linhagem C57BL/6J, saudáveis, com 5 semanas de vida, pesando entre 15 a 18 g, obtidos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Biomodelos (ICTB) da Fundação Oswaldo Cruz. Após uma semana de adaptação, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos com dietas distintas para consumo.

Na primeira fase do estudo, os animais (n=30) foram separados para o consumo de uma dieta normolipídica (padrão) da marca Nuvilab®; e os outros animais (n=30) foram separados para o consumo de dieta hiperlipídica para o desenvolvimento da obesidade (Prag Soluções – SP). O consumo das dietas normolipídica e hiperlipídica perdurou-se por 17 semanas, seguindo o protocolo de Wang et al., (2009). Após 17 semanas de consumo de ração, os animais foram subdivididos, aleatoriamente, para seguirem adiante na segunda fase do estudo.

Na segunda fase do estudo os animais do grupo dieta normolipídica foram subdivididos em seis novos grupos sendo que os mesmos foram mantidos a mesma dieta dos grupos anteriores. Os grupos foram denominados de dieta normolipídica tratados com salina; dieta normolipídica tratados com sibutramina (10 mg/Kg); dieta normolipídica tratados com chá verde (10 mg/Kg). Já os animais que consumiram a dieta hiperlipídica também foram subdivididos em seis novos grupos, onde não houve troca de dieta. Estes grupos foram denominados de: dieta hiperlipídica tratados com salina; dieta hiperlipídica tratados com sibutramina (10mg/Kg), e dieta hiperlipídica tratados com chá verde (10mg/Kg). Todos os animais foram tratados por gavagem via oral durante 4 semanas.

O protocolo experimental desse estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Fundação Oswaldo Cruz, sob licença de número P17/13-5. Durante todo o tratamento nas fases 1 e 2, os animais tiveram água e alimentação *ad libitum*, com a presença de ciclo claro/escuro de 12 horas, temperatura de 22°C ± 2°C e umidade da sala entre 60-65%. Durante a primeira e a segunda fase do estudo, o consumo de ração, água e o peso corporal foram avaliados uma vez por semana. Sendo que na segunda fase do estudo, os animais foram tratados com chá verde e/ou sibutramina nas doses de 10mg/Kg por dia por via oral.

4.6 Análise bioquímica

Ao final da segunda fase de tratamento, os animais foram anestesiados com cetamina (140 mg/Kg) e xilazina (20 mg/Kg) via intraperitoneal (v.i.), onde foi possível coletar o sangue através de punção cardíaca para realização de análise bioquímica e hematológica. As alíquotas de sangue foram armazenadas em mini tubos hemo com gel separador ativador de coágulo e analisados no laboratório de acordo com as instruções do fabricante dos kits (Labtest). A partir dessas amostras foram avaliados os níveis séricos de colesterol total (CT) e glicose (GLI). As análises de ureia, creatinina, ácido úrico, bilirrubina, AST, ALT, fosfatase alcalina, número de hemácias, hemoglobina, hematócrito, VCM, HCM, CHCM, leucócitos e plaquetas foram realizadas no ICTB.

Após a coleta de sangue foram retirados os coxins adiposos epididimal, retroperitoneal e perirenal, musculatura gastrocnêmica, além do fígado dos animais para posterior pesagem em balança analítica a fim de se obter o peso absoluto dos órgãos para posterior análise.

4.7 Análise estatística dos testes farmacológicos

Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão para todas as análises, e a comparação entre grupos para ganho de peso, delta ganho de peso, consumo alimentar e consumo hídrico na primeira fase do estudo foram realizadas através do teste t-Student entre grupos. Para a análise do consumo alimentar e consumo hídrico na fase de tratamento do estudo da obesidade, utilizou-se o teste de análise de variância (ANOVA one-way) Kruskal-Wallis para dados não paramétricos com post-hoc Dunnett. Os resultados dos pesos absolutos dos órgãos (fígado, gordura visceral e musculatura gastrocnêmica) foram obtidos através da análise de variância (ANOVA one-way) Kruskal-Wallis para dados não paramétricos, e para a análise do perfil de células do sistema imune, usou-se o teste Turkey's para múltipla comparação, onde em todos os testes utilizados, considerou-se significativo $p < 0,05$. Todas as análises foram realizadas utilizando o software Graph Pad Prism versão 3.00 para Windows 7.

5 RESULTADOS

5.1 Presença de EGCG em chás verdes em cápsula por UPLC UV-Vis/DAD

Os parâmetros da etapa analítica procederam de uma metodologia já estabelecida pelo Setor de Contaminantes – Departamento de Química do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), local onde foi realizado o estudo. O fluxo de 1 mL/min proporcionou um baixo consumo de solventes e da geração de resíduos nas análises.

As curvas de calibração (figura 2) foram calculadas a partir da área do pico em relação à concentração de EGCG. A curva foi ajustada para uma função linear, obtendo-se coeficiente de regressão (R^2) superior a 0,999906, como pode ser observado na tabela 6.

Tabela 6 - Coeficiente de regressão

<i>Estatística de regressão</i>	
R múltiplo	0,999961
R-Quadrado	0,999922
R-quadrado ajustado	0,999906
Erro padrão	0,318246
Observações	7

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

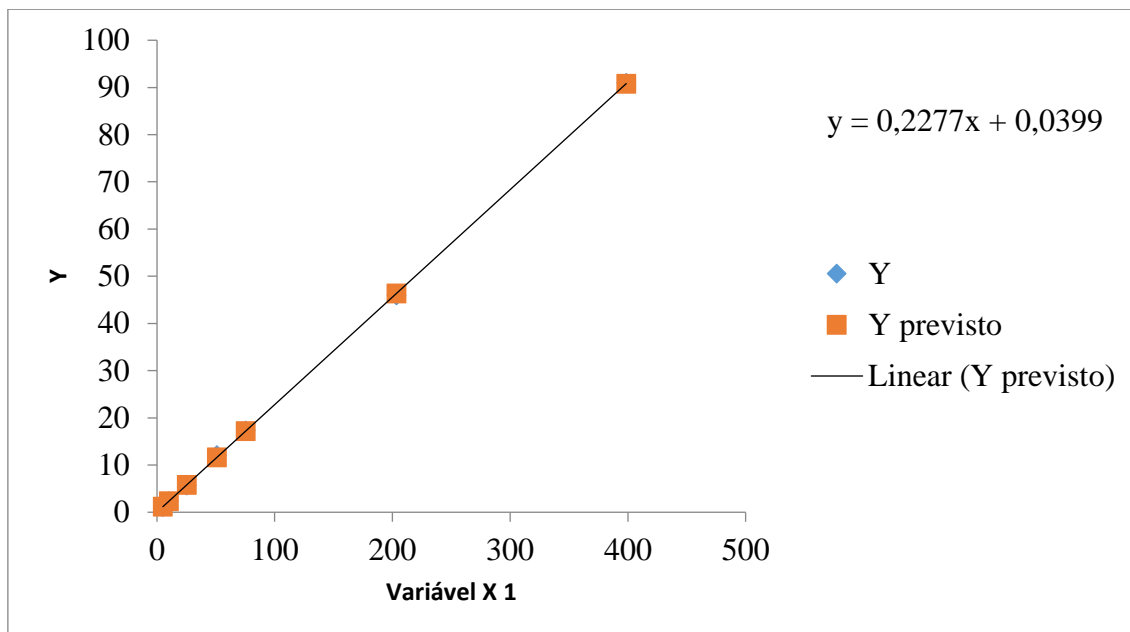
A tabela 7 apresenta o resultado da análise de resíduos da regressão linear.

Tabela 7 - Resultado de resíduos

<i>Observação</i>	<i>Y previsto</i>	<i>Resíduos</i>
1	1,180784	-0,04768
2	2,358137	-0,03954
3	5,833265	-0,19716
4	11,62666	0,468737
5	17,22649	0,102708
6	46,38705	-0,45355
7	90,81221	0,16649

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Figura 2 - Curva de calibração da catequina EGCG em chá verde em cápsula com equação da regressão linear

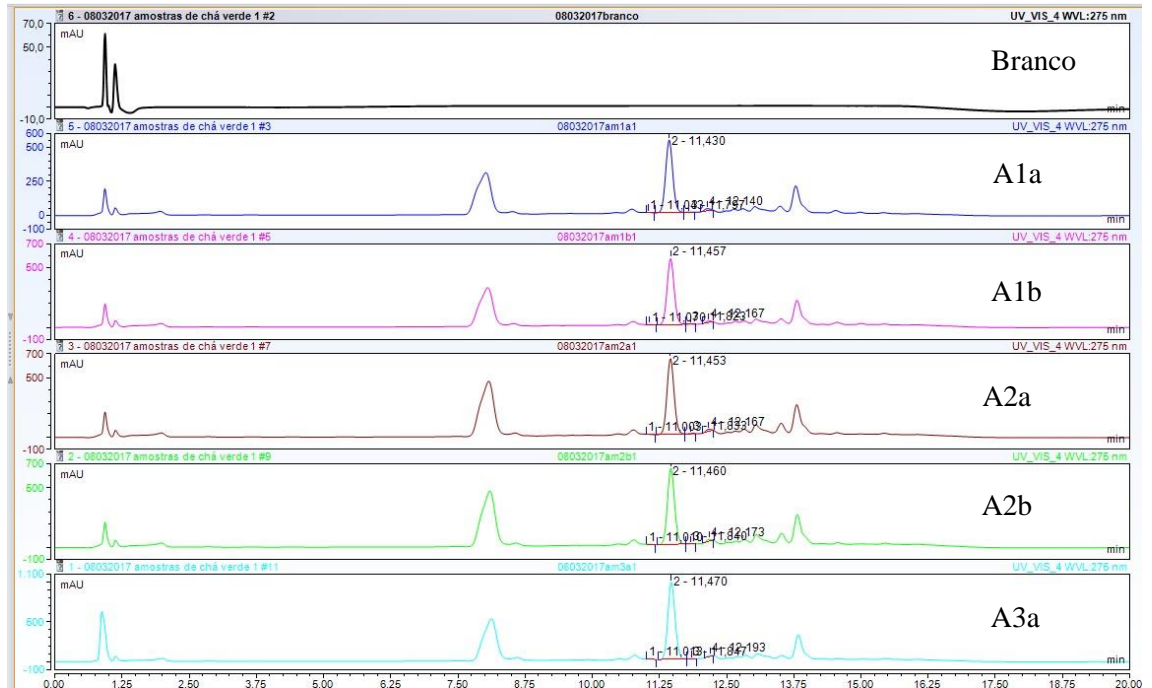


Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Os resultados dos cromatogramas obtidos através das análises individuais das amostras foram visualizados com o auxílio do *software* Chromeleon®. As condições experimentais definidas para as amostras de chá verde estão descritas na tabela 2 através do UPLC-UV/Vis-DAD foram: λ 275 nm; coluna Phenomenex®; fluxo: 1 mL/min; solução de água e isopropanol à 50% (v/v); fase A: solução de heptanossulfonato 0,1% (p/v) com pH 3,55 e fase C: acetonitrila.

As 11 amostras diferentes de chá verde em cápsula foram avaliadas em duplicatas (alíquotas a e b). As catequinas são ésteres do ácido gálico, como a EGCG que estão presentes no chá verde, assim como a cafeína, teofilina e teobromina. A amostra em branco indicou que não houve interferência de outras espécies na amostra. Todas as amostras (A, B, C, D e E), exceto a amostra F, junto com suas alíquotas, apresentaram cromatogramas UPLC-UV/Vis-DAD com sobreposição da presença do marcador catequina EGCG semelhante ao cromatograma padrão da catequina que eluem em torno de 11,0 a 12,5 minutos, conforme as figuras 3, 4, 5, 6 e 7. Na amostra F não foi observado o sinal marcador principal da catequina EGCG, conforme a figura 6, indicando uma concentração muito baixa dessa catequina no chá verde.

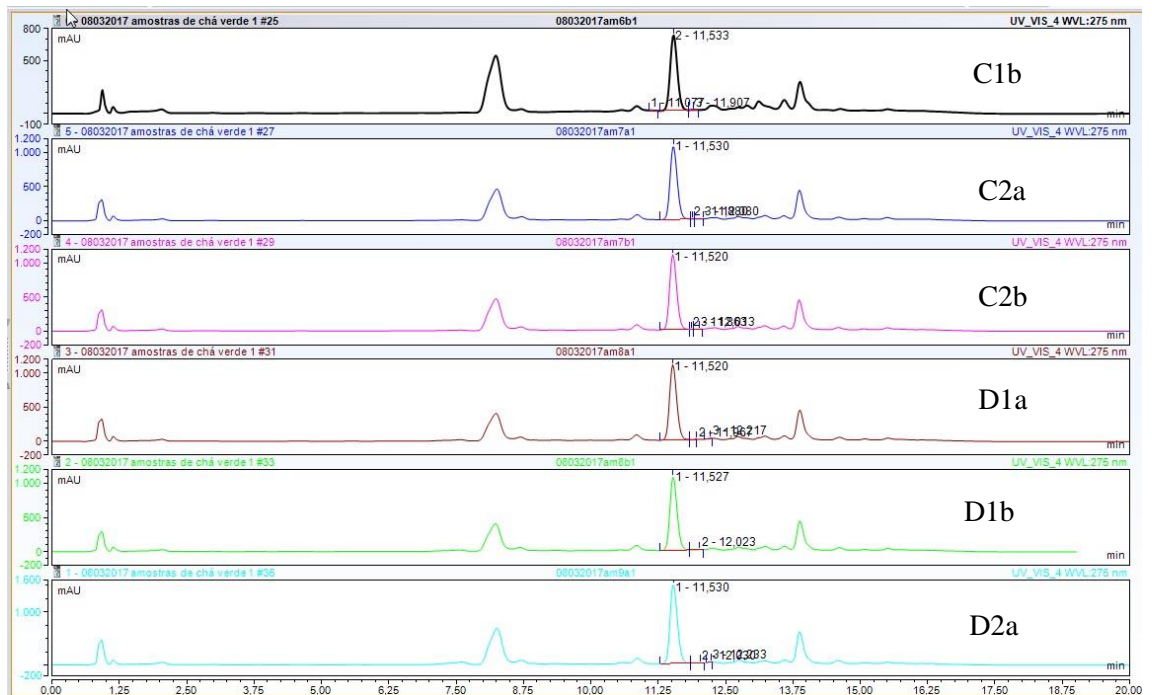
Figura 3 - Cromatograma das amostras de chá verde em cápsula, através do método de UPLC-UV/Vis-DAD. As amostras estão identificadas como branco, amostra A (lotes 1 e 2, alíquotas a e b, cada), e amostra A (lote 3, alíquota a).



Condições experimentais: Cromatograma obtido através de UPLC-UV/Vis-DAD, λ : 275 nm, utilizando-se a coluna Phenomenex, diluente: composto por uma solução de água e isopropanol a 50% v/v, fase A: solução a 0,1% de heptanossulfonato (p/v) com pH 3,55, fase C: acetonitrila, fluxo: 1 mL/min.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

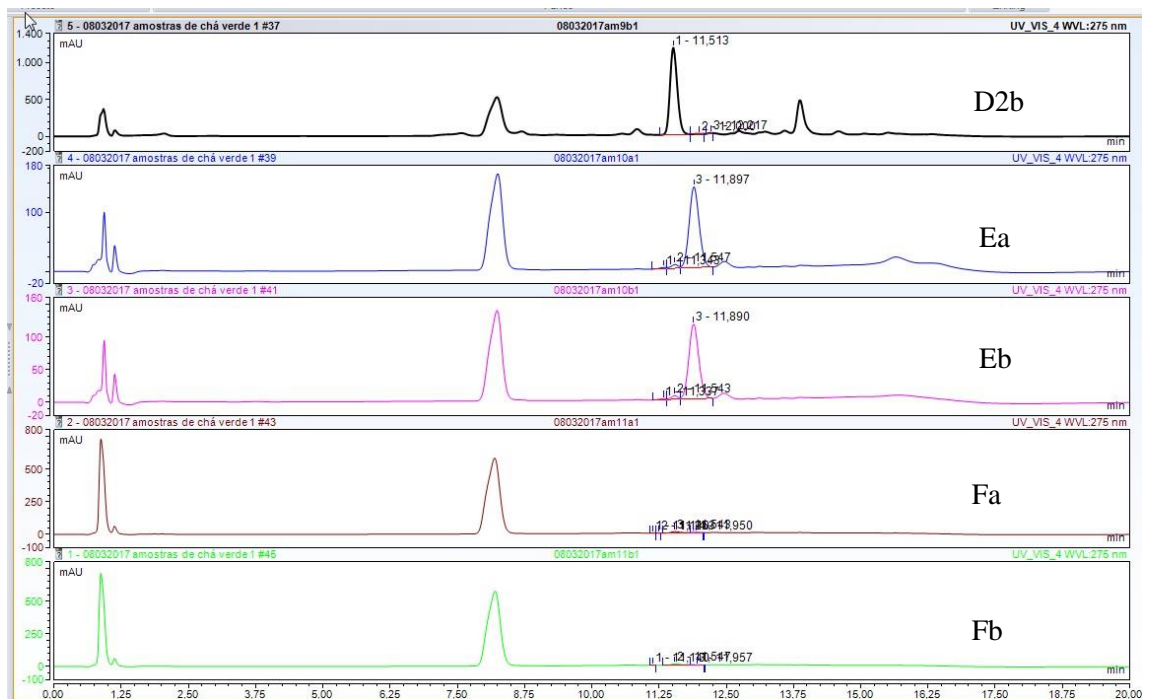
Figura 5 - Cromatograma das amostras de chá verde em cápsula, através do método de UPLC-UV/Vis-DAD. As amostras estão identificadas como amostra C (lote 1, alíquota b), amostra C (lote 2, alíquotas a e b), amostra D (lote 1, alíquotas a e b) e amostra D (lote 2, alíquota a).



Condições experimentais: Cromatograma obtido através de UPLC-UV/Vis-DAD, λ : 275 nm, utilizando-se a coluna Phenomenex, diluente: composto por uma solução de água e isopropanol a 50% v/v, fase A: solução a 0,1% de heptanossulfonato (p/v) com pH 3,55, fase C: acetonitrila, fluxo: 1 mL/min.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

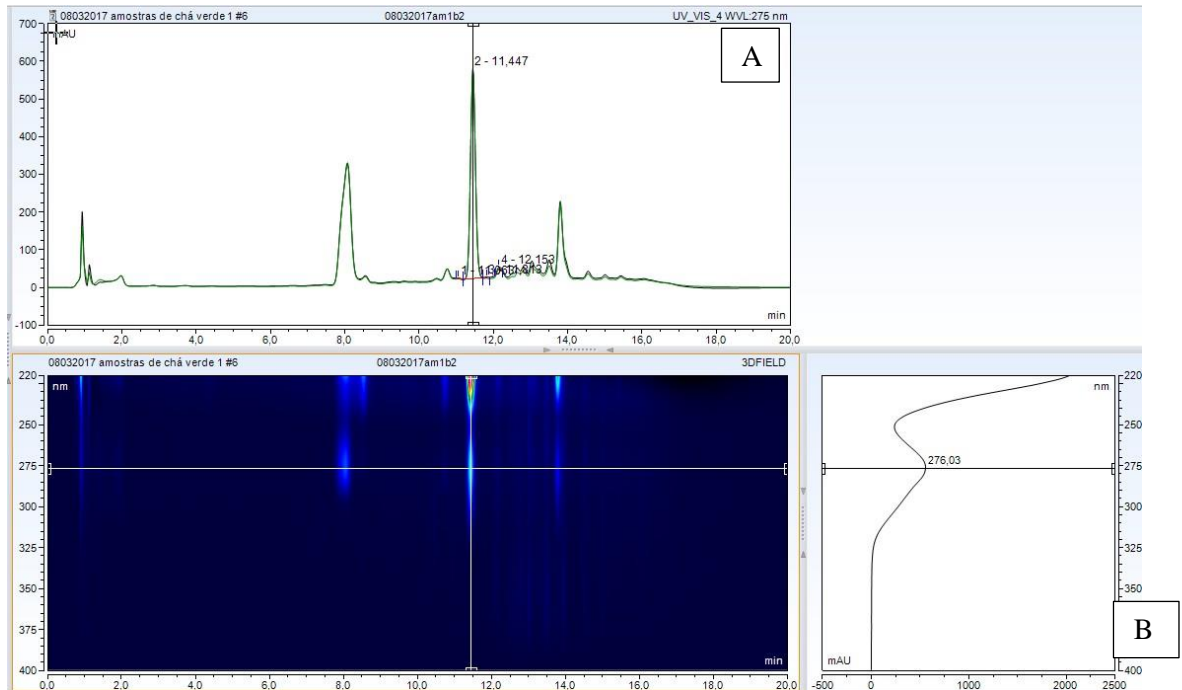
Figura 6 - Cromatograma das amostras de chá verde em cápsula, através do método de UPLC-UV/Vis-DAD. As amostras estão identificadas como amostra D (lote 2, alíquota b), amostra E (lote único, alíquotas a e b) e amostra F (lote único, alíquotas a e b).



Condições experimentais: Cromatograma obtido através de UPLC-UV/Vis-DAD, λ : 275 nm, utilizando-se a coluna Phenomenex, diluente: composto por uma solução de água e isopropanol a 50% v/v, fase A: solução a 0,1% de heptanossulfonato (p/v) com pH 3,55, fase C: acetonitrila, fluxo: 1 mL/min.
Fonte: (Do próprio autor, 2018)

O cromatograma da figura 7 refere-se à sobreposição da catequina EGCG da amostra A (lote 1), frente o padrão, onde pode ser observado que a catequina EGCG eluiu na deflexão do *background* do gradiente, em torno de 11,0 a 12,5 minutos.

Figura 7 - (a) Cromatograma UV/Vis referente à amostra A (lote 1) mostrando o pico em 276,03 nm da catequina EGCG com sobreposição do padrão da EGCG; (b) cromatograma DAD referente à amostra A (lote 1).



Condições experimentais: Cromatograma obtido através de UPLC-UV/Vis-DAD, λ : 275 nm, utilizando-se a coluna Phenomenex, diluente: composto por uma solução de água e isopropanol a 50% v/v, fase A: solução a 0,1% de heptanossulfonato (p/v) com pH 3,55, fase C: acetonitrila, fluxo: 1 mL/min. Fonte: (Do próprio autor, 2018)

A tabela 8 apresenta os teores da catequina EGCG (mg/g) de chás verdes comercializados em cápsula. Todas as amostras analisadas apresentaram valores de 5,83 a 48,55 mg/g de EGCG, exceto as das marcas D (lote 2) e F (lote único), cujas concentrações de EGCG foram de 1,47 e 0,145 mg/g, respectivamente. Acredita-se que este valor está relacionado à composição do produto onde a catequina possa estar em pequenas concentrações, quando comparadas aos demais ingredientes adicionados. Os resultados da tabela 8 foram obtidos por meio da curva de calibração, presente na figura 2, cuja função de y foi: $Y = 0,2277x + 0,0399$. O valor de Y foi multiplicado pelo volume da diluição em água / Isopropanol (50:50 v/v), e após, multiplicado pelo peso das amostras de chá, para se obter a média e o desvio-padrão.

Tabela 8 - Valores em mg/g dos teores da catequina EGCG encontradas em diversas marcas de chás verdes comercializados em cápsula.

Marcas / Lotes	EGCG (mg/g)
A (lote 1)	19,56±0,87
A (lote 2)	23,06±0,07
A (lote 3)	23,944±1,53
B (lote 1)	34,09±0,66
B (lote 2)	48,55±8,53
C (lote 1)	39,25±0,17
C (lote 2)	41,02±1,38
D (lote 1)	12,94±0,03
D (lote 2)	1,47±0,01
E (único lote)	5,83±0,74
F (único lote)	0,145±0,01

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

A tabela 9 indica as concentrações de EGCG relacionadas ao consumo diário recomendado por cada fabricante dos produtos analisados, segundo a equação 1.

Equação 1: [(gramatura da cápsula x recomendação diária por fabricante) x EGCG (mg/g)].

Ex.: [(0,5 x 3) x 19,56] = 27,57 mg/g EGCG

De acordo com a recomendação diária (cápsulas/dia), o consumo de EGCG proveniente desse tipo de produto pode ser maior ou menor, como podem ser observados nos produtos das marcas C e F, respectivamente.

Tabela 9 - Concentração de EGCG (mg/g) através da posologia informada por fabricante/dia em diferentes marcas e lotes de chás verdes.

Marcas / Lotes	Recomendação diária recomendada por fabricante (cápsulas/dia)	EGCG (mg/g)
A (lote 1)	3	27,53
A (lote 2)	3	32,51
A (lote 3)	3	33,75
B (lote 1)	2	32,04
B (lote 2)	2	45,63
C (lote 1)	4	73,79
C (lote 2)	4	77,11
D (lote 1)	4	24,32
D (lote 2)	4	2,76
E (único lote)	1	5,83
F (único lote)	4	1,09

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

5.2 Qualidade de chás verdes em cápsula quanto à presença de contaminantes inorgânicos por GFAAS

Os resultados das amostras obtidos através de interpolação em curvas de calibração analíticas e os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) estão apresentados na tabela 10 para cada elemento. A recuperação dos elementos inorgânicos adicionados às amostras foi de 90 a 100% como demonstrado na tabela 11.

Tabela 10 - Elemento, técnica, comprimento de onda, coeficiente de correlação (r), equação da reta e LQ para As, Cd e Pb.

Elemento	Técnica	λ (nm)	(r)	Equação da Reta	LQ ($\mu\text{g/L}$)
As	GF AAS	193,7	0,9983	$Y = 0,0020x - 0,0006$	2
Cd	GF AAS	228,8	0,9996	$Y = 0,050x + 0,0017$	0,5
Pb	GF AAS	283,3	0,9996	$Y = 0,0027x - 0,0057$	10

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Tabela 11 - Dados de recuperação para amostras fortificadas com As, Cd e Pb.

Elemento	Quantidade adicionada ($\mu\text{g/L}$)	Resultado obtido ($\mu\text{g/L}$)	% Recuperação
As	30	27,08	90
Cd	30	30,00	100
Pb	30	29,25	98

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Um total de onze amostras de diferentes marcas e lotes de chás verdes comercializados em cápsula foram analisados quanto à presença de contaminantes inorgânicos. As concentrações dos elementos As, Cd e Pb (mg/Kg) estão ilustradas na tabela 12. Os resultados indicam que as concentrações dos elementos arsênico e cádmio encontram-se dentro dos limites máximos permitidos (LMP) por legislação brasileira, segundo a RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Entretanto, para a concentração do elemento chumbo, as amostras A, B, D (lote 1) e E foram identificadas como acima dos limites máximos permitidos pela legislação vigente.

Tabela 12 - Concentração (mg/Kg) dos elementos inorgânicos As, Cd e Pb nas amostras estudadas por GF AAS (n=2).

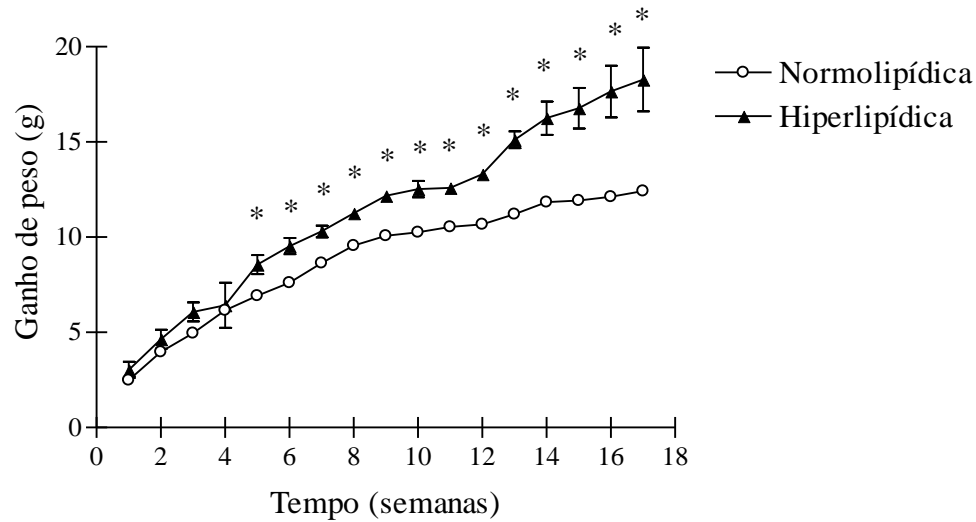
Amostras	As (mg/Kg)	Cd (mg/Kg)	Pb (mg/Kg)
Legislação mg/Kg	0,6	0,4	0,6
LQ mg/Kg	0,1	0,025	0,25
A lote 1	0,487±0,10	0,21±0,02	2,03±0,07
A lote 2	0,37±0,09	0,28±0,01	4,54±0,03
A lote 3	0,49±0,09	0,094±0,01	4,50±0,57
B lote 1	<0,1	0,12±0,01	1,37±0,03
B lote 2	<0,1	0,16±0,01	1,9±0,3
C lote 1	0,37±0,03	<0,025	0,22±0,01
C lote 2	0,469±0,07	<0,025	0,33±0,09
D lote 1	<0,1	0,09±0,01	0,7±0,1
D lote 2	<0,1	0,062±0,01	0,22±0,01
E	<0,1	0,094±0,01	0,63±0,01
F	<0,1	<0,025	<0,25

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

5.3 Ensaio da obesidade

Durante a primeira fase do ensaio de obesidade foi possível observar que os animais que consumiram uma dieta hiperlipídica apresentaram um aumento, significativo, no ganho de peso (g) a partir da 5ª semana de consumo alimentar, estendendo-se até o final desta fase, em comparação ao grupo que recebeu a dieta normolipídica (figura 8). O mesmo pode ser observado na figura 9 cujos valores indicam o ganho de peso através do cálculo do delta peso (%), corroborando com os dados de ganho de peso em gramas (figura 8).

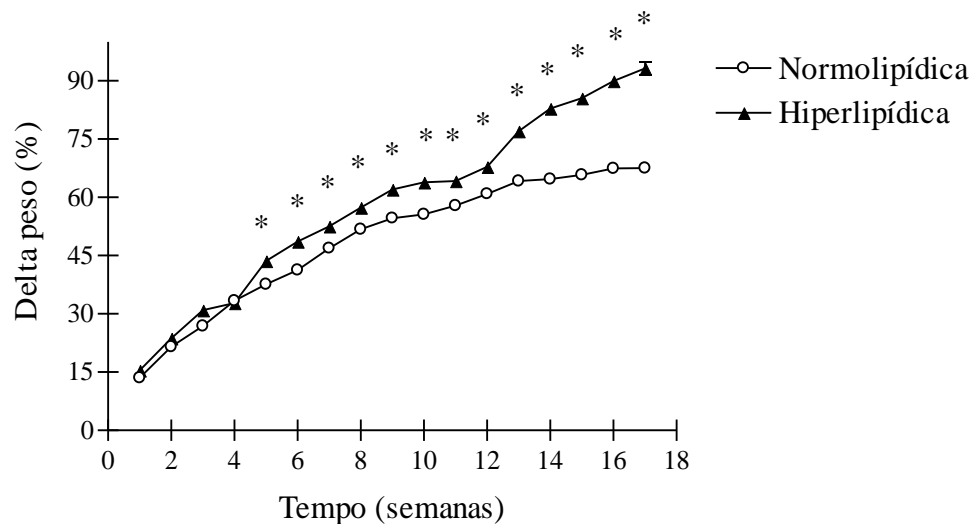
Figura 8 - Ganho de peso (g) dos animais durante 17 semanas de consumo de dieta hiperlipídica (n= 30) e dieta normolipídica (n= 30).



Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste t-Student, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Figura 9 - Ganho de peso através do delta peso (%) dos animais durante 17 semanas de consumo de dieta hiperlipídica (n= 30) e dieta normolipídica (n= 30).



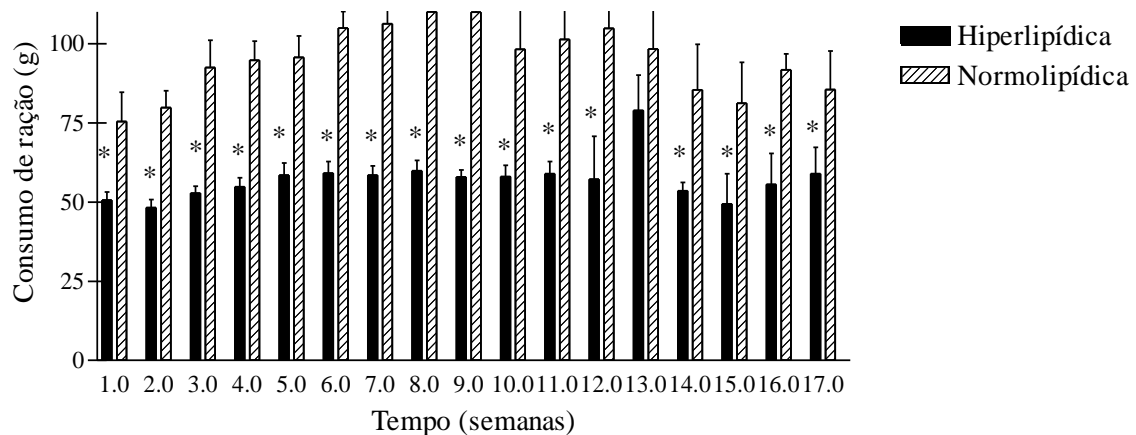
Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste t-Student, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

As dietas propostas para este estudo foram as dietas hiperlipídica com, aproximadamente, 60% de lipídeos e dieta normolipídica com 15% de lipídeos. Os animais

que consumiram a dieta hiperlipídica apresentaram uma redução significativa no consumo alimentar quando comparado ao grupo dieta normolipídica (figura 10), desde a primeira semana de consumo alimentar perdurando até o final da primeira fase, onde a redução da ingestão alimentar deve-se ao poder de saciedade da dieta proporcionado pela alta ingestão de lipídeos. A figura 11 ilustra o consumo hídrico entre grupos, onde os animais da dieta hiperlipídica apresentaram uma redução no consumo hídrico, quando comparado ao grupo dieta normolipídica. Acredita-se que essa redução no consumo hídrico nesta fase esteja relacionada ao aumento do consumo calórico e pela composição da dieta, sendo esta rica em gorduras saturadas.

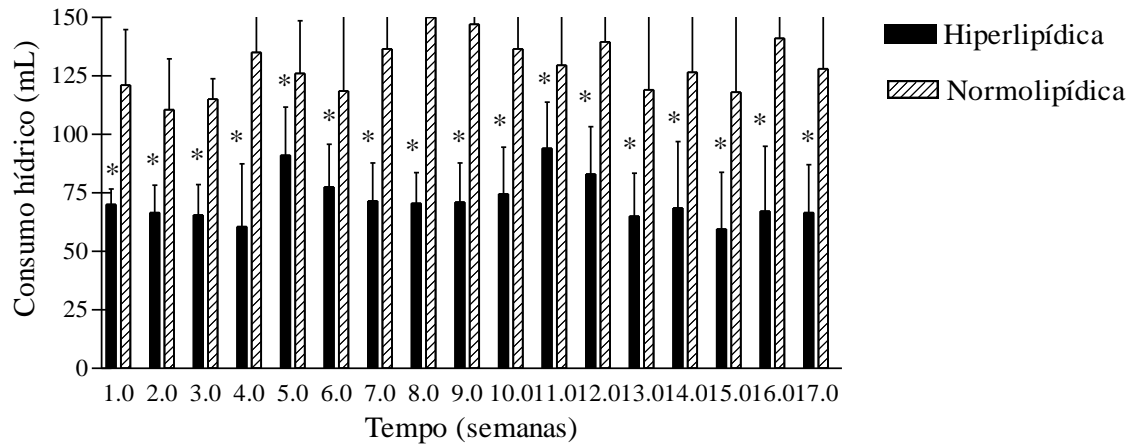
Figura 10 - Consumo alimentar dos camundongos C57BL/6J durante 17 semanas de consumo de dieta hiperlipídica (n= 30) e dieta normolipídica (n= 30).



Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste t-Student, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Figura 11 - Consumo hídrico de camundongos C57BL/6J durante 17 semanas de consumo de dieta hiperlipídica (n= 30) e dieta normolipídica (n= 30).



Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste t-Student, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

5.3.1 Tratamento com chá verde em cápsula

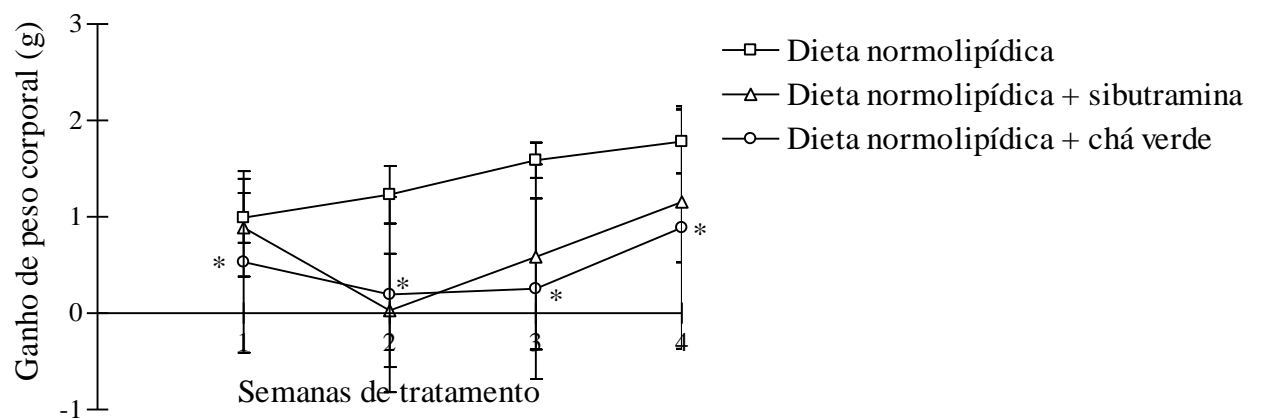
Na segunda fase do estudo, os animais que consumiram as dietas hiperlipídica e normolipídica foram mantidos em seus atuais grupos dietéticos, sendo eles, posteriormente, subdivididos em seis novos grupos para dar início ao tratamento com o chá verde.

Os animais do grupo dieta normolipídica tratados com chá verde apresentaram redução no peso corporal, significativo, durante as 4 semanas de tratamento ($0,53 \pm 0,94$; $0,19 \pm 1,01$, $0,25 \pm 0,93$ e $0,89 \pm 1,25$ g), quando comparada ao grupo dieta normolipídica tratados com salina ($0,99 \pm 0,25$; $1,23 \pm 0,29$; $1,58 \pm 0,18$ e $1,78 \pm 0,33$ g), mostrando que o tratamento com o chá verde em cápsula foi capaz de reduzir o peso corporal dos animais diante do consumo de dieta normolipídica (figura 12).

Já os animais do grupo dieta hiperlipídica tratados com sibutramina apresentaram uma perda de peso significativa durante todo o tratamento ($3,07 \pm 0,07$; $3,19 \pm 0,14$; $3,59 \pm 0,03$ e $2,81 \pm 0,5$ g), quando comparado ao grupo dieta hiperlipídica tratados com salina ($0,76 \pm 0,34$; $1,08 \pm 0,57$; $1,22 \pm 0,77$ e $1,95 \pm 0,75$ g), mostrando que o fármaco inibidor de apetite foi capaz de inibir o ganho de peso corporal nos animais, mesmo com o consumo de uma dieta rica em lipídeos (figura 13). Entretanto, o efeito da perda de peso não foi observado na comparação entre os grupos dieta hiperlipídica tratados com o chá verde ($0,52 \pm 0,36$; $0,55 \pm 0,42$; $1,88 \pm 0,80$

e $3,7 \pm 0,37$ g) com o grupo dieta hiperlipídica tratados com salina, como pode ser observado na figura 13.

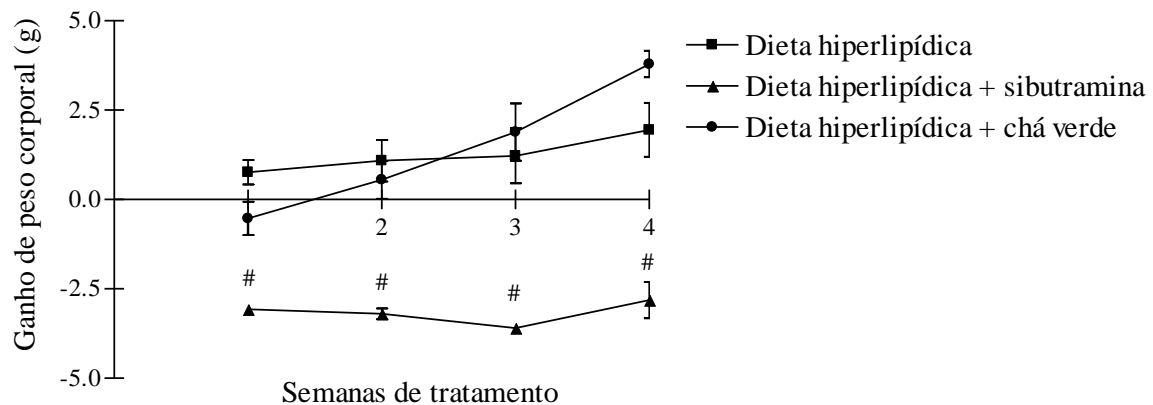
Figura 12 - Ganho de peso entre os grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).



Ganho de peso corporal (g) em camundongos C57BL6/J com consumo de dieta normolipídica tratados com salina, sibutramina ou chá verde (10 mg/Kg) durante quatro semanas. Os resultados mostram que o grupo dieta normolipídica tratados com chá verde apresentou significância estatística quando comparado ao grupo controle. Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste t-Student, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Figura 13 - Ganho de peso entre os grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).



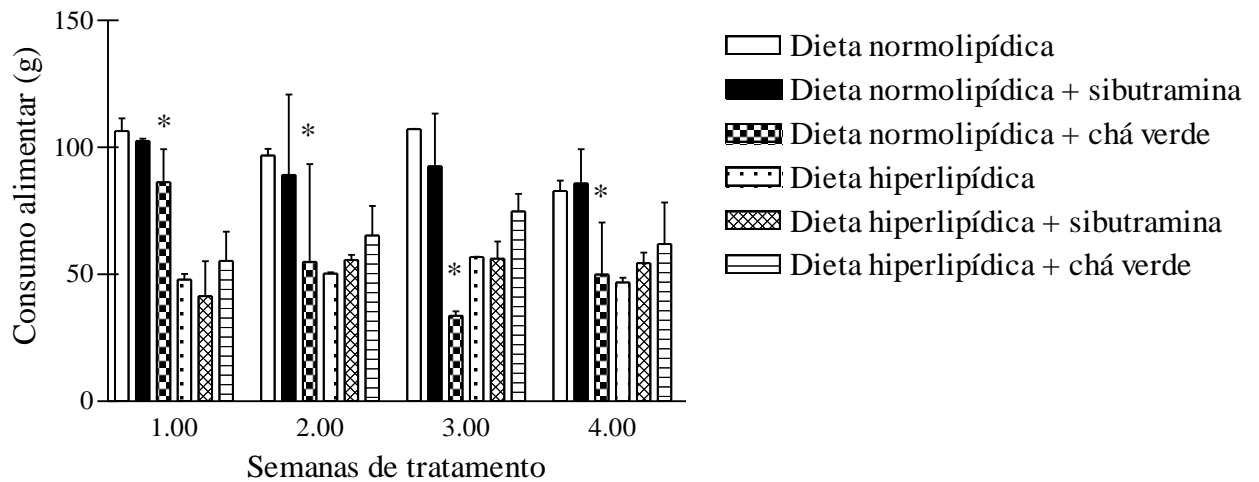
Ganho de peso corporal (g) em camundongos C57BL6/J com consumo de dieta hiperlipídica tratados com salina, sibutramina ou chá verde (10 mg/Kg) durante quatro semanas. Os resultados mostram que o grupo dieta hiperlipídica tratados com sibutramina apresentou significância estatística quando comparado ao seu grupo controle.

Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste t-Student, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

A figura 14 mostra que os animais que consumiram uma dieta normolipídica e foram tratados com o chá verde durante 4 semanas apresentaram redução no consumo alimentar, corroborando com os dados ilustrados na figura 12, onde essa redução do consumo alimentar está associada a redução no peso corporal, sendo este significativo desde a primeira semana de tratamento, perdurando até o final do estudo.

Figura 14 - Consumo alimentar (g) entre grupos tratados com salina, sibutramina ou chá verde durante quatro semanas

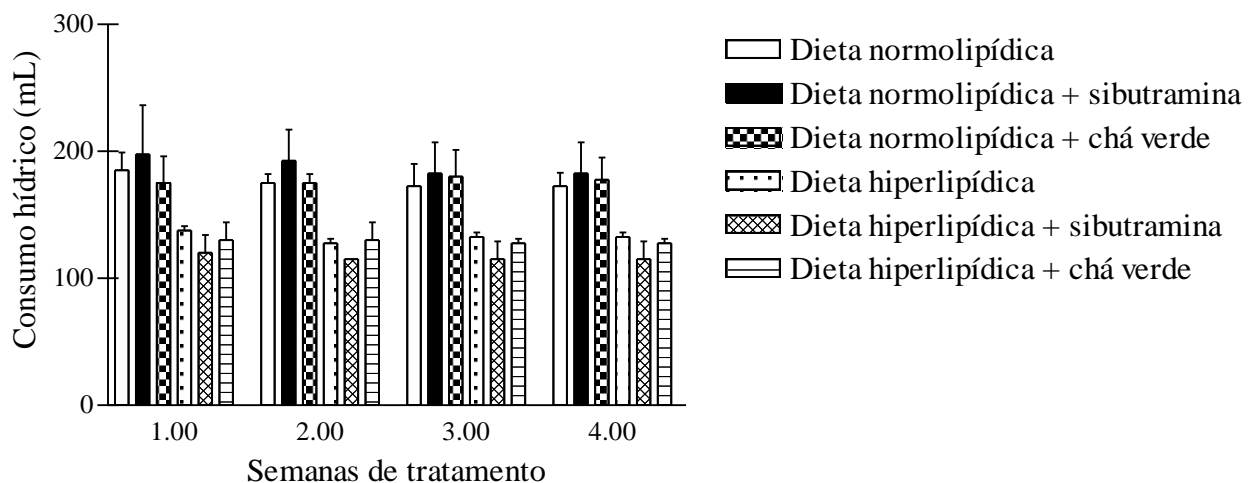


Os resultados mostram que o grupo dieta normolipídica tratados com chá verde apresentaram uma redução, significativa, no consumo alimentar durante quarto semanas de tratamento. Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste ANOVA one way kruskal-wallis com teste post-hoc dunnett, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Não foi observada diferença estatística entre os grupos tratados quanto ao consumo hídrico durante as quatro semanas de estudo, conforme está ilustrado na figura 15.

Figura 15 - Consumo alimentar (g) entre grupos tratados com salina, sibutramina ou chá verde durante quatro semanas.

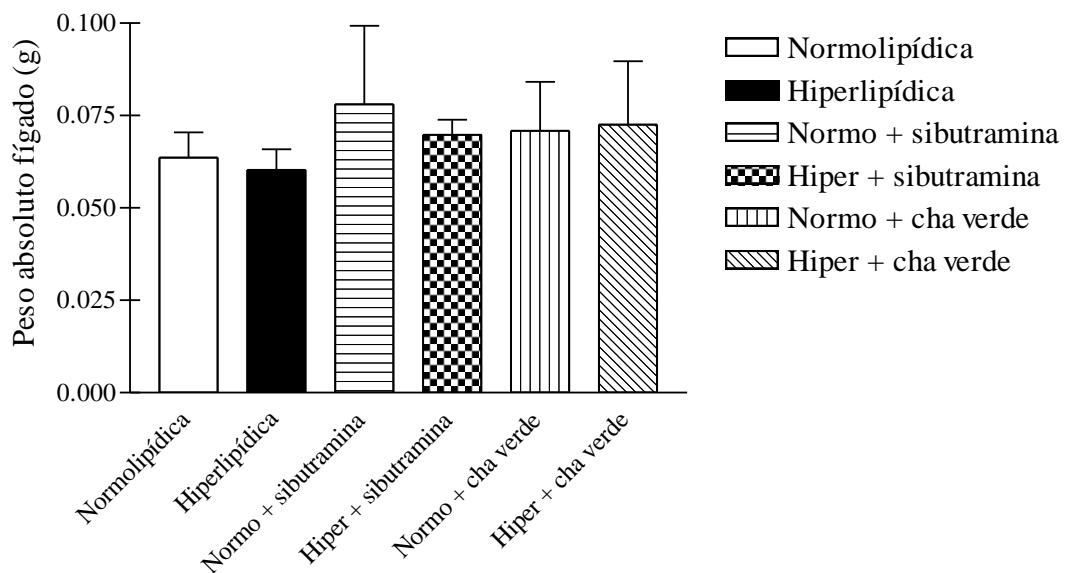


Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste ANOVA one way kruskal-wallis com teste post-hoc dunnett, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Em relação aos índices de peso absoluto do fígado, gordura visceral e musculatura gastrocnêmica entre grupos, foi possível observar que não houve diferença estatística entre os grupos dieta normolipídica tratados quando comparado ao grupo controle dieta normolipídica, e dieta hiperlipídica tratados quando comparado ao grupo controle dieta hiperlipídica (figuras 16, 17 e 18).

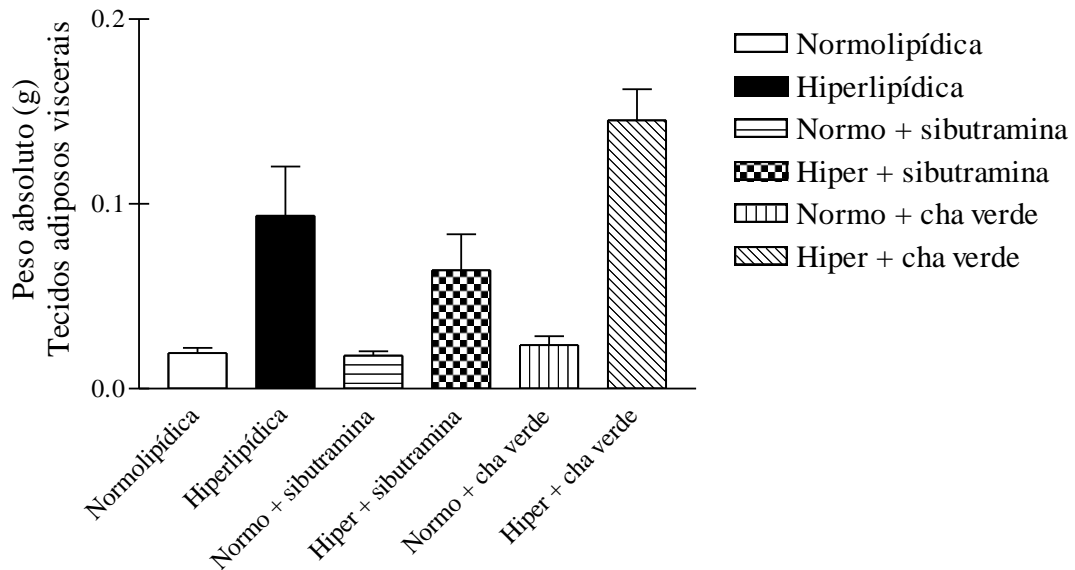
Figura 16 - Peso absoluto do fígado dos animais dos grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).



Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste ANOVA one way kruskal-wallis com teste post-hoc dunnett, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

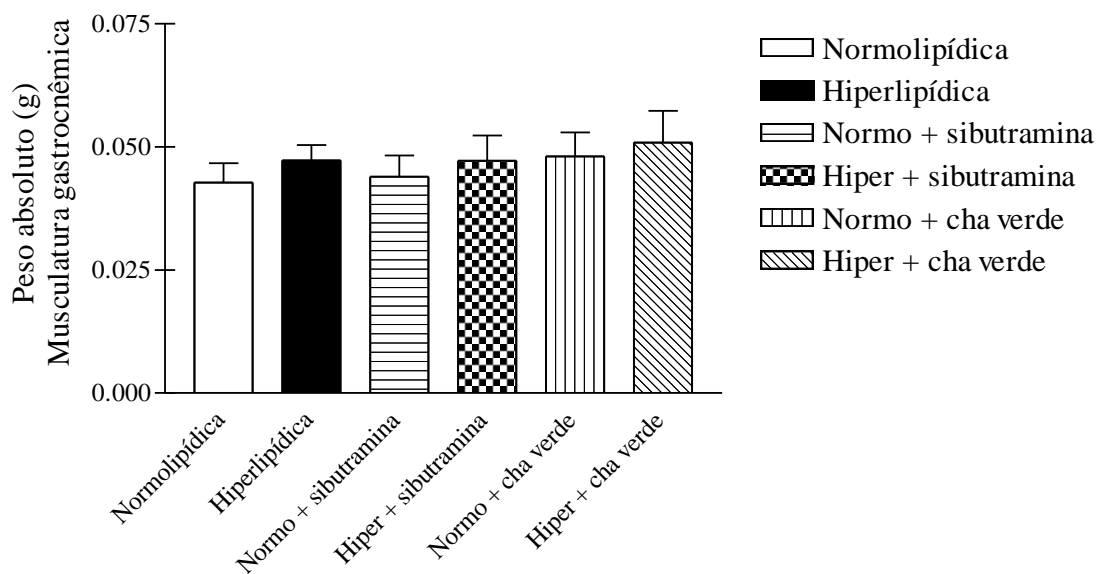
Figura 17 - Peso absoluto dos tecidos adiposos (retroperitoneal, epididimal e perirrenal) dos animais nos grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).



Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste ANOVA one way kruskal-wallis com teste post-hoc dunnett, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Figura 18 - Peso absoluto do tecido muscular gastrocnêmico dos animais nos grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).



Os resultados foram obtidos através da média \pm erro padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do teste ANOVA one way kruskal-wallis com teste post-hoc dunnett, onde $p < 0,05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Já as análises bioquímicas mostraram que os animais obesos da dieta hiperlipídica tratados com sibutramina apresentaram redução significativa nos níveis plasmáticos de colesterol e ureia quando comparados aos animais obesos do grupo controle dieta hiperlipídica. Em contrapartida, foi observado que os animais obesos tratados com sibutramina apresentaram um aumento, significativo, nos níveis plasmáticos de ALT. Já os animais obesos da dieta hiperlipídica tratados com chá verde apresentaram uma redução, significativa, nos níveis plasmáticos de AST, quando comparados ao grupo controle, conforme pode ser observado na tabela 13. Já os animais do grupo dieta normolipídica tratados com chá verde apresentaram uma redução, significativa, nos níveis plasmáticos de glicose, quando comparado ao grupo controle dieta normolipídica. E o tratamento com o chá verde mostrou ser capaz de aumentar, significativamente, os níveis plasmáticos de enzimas hepáticas como a AST e a ALT em animais que consumiram uma dieta normolipídica (tabela 13).

Tabela 13 - Análise bioquímica entre os grupos dieta normolipídica, dieta hiperlipídica, dieta normolipídica + tratamento com sibutramina, dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina, dieta normolipídica + consumo de chá verde e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde.

Parâmetros	Dieta normolipídica	Dieta normolipídica + sibutramina	Dieta normolipídica + chá verde	Dieta hiperlipídica	Dieta hiperlipídica + sibutramina	Dieta hiperlipídica + chá verde
Glicose (mg/dL)	405,86 ± 71,91	334,65 ± 85,75	254,48 ± 42,76 *	372,64 ± 65,03	339,86 ± 9,91	424,59 ± 43,22
Colesterol (mg/dL)	105,40 ± 12,84	114,41 ± 17,65	97,59 ± 5,27	213,06 ± 28,27	166,66 ± 18,77 **	207,59 ± 25,46
Ureia (mg/dL)	47,85 ± 6,94	51,14 ± 10,03	49,32 ± 4,45	45,5 ± 1,84	37,46 ± 1,61 **	42,3 ± 9,75
Creatinina (mg/dL)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Ácido úrico (mg/dL)	1,07 ± 0,26	0,89 ± 0,3	1,42 ± 0,35	1,48 ± 0,47	1,04 ± 0,29	1,02 ± 0,17
Bilirrubina (mg/dL)	0,5 ± 0,36	0,5 ± 0,28	0,7 ± 0,16	0,7 ± 0,23	0,7	0,07 ± 0,18
AST (U/L)	55,0 ± 6,48	50,89 ± 11,43	95,5 ± 26,18 *	56,83 ± 9,06	51,6 ± 10,89	39,0 ± 2,82 **
ALT (U/L)	36,75 ± 2,62	38,43 ± 17,58	54,5 ± 10,87 *	29,83 ± 8,08	44,66 ± 7,68 **	39,71 ± 10,11
Fosfatase alcalina (U/L)	81,4 ± 9,20	66,70 ± 20,17	75,0 ± 9,55	42,83 ± 3,60	40,16 ± 8,47	45,28 ± 5,82

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

Uma das práticas mais comuns para obter resultados sobre o estado de saúde dos animais em estudos experimentais é através da hematologia clínica. Em nosso estudo, observamos que não houve diferença estatística entre grupos dieta normolipídica tratados e

dieta hiperlipídica tratados quando comparados aos seus respectivos grupos controle tanto para o hemograma, quanto para o plaquetograma (tabela 14).

Tabela 14 - Hemograma entre os grupos dieta normolipídica, dieta hiperlipídica, dieta normolipídica + tratamento com sibutramina, dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina, dieta normolipídica + consumo de chá verde e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde.

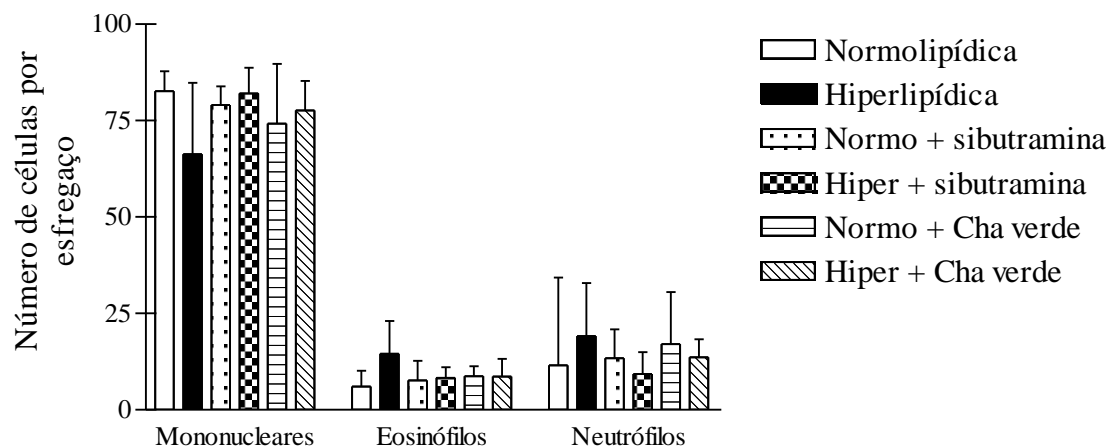
Eritograma	Dieta Normolipídica	Dieta Hiperlipídica	Dieta normolipídica + sibutramina	Dieta hiperlipídica + sibutramina	Dieta normolipídica + chá verde	Dieta hiperlipídica + chá verde
Hemácias (milhões/mm ³)	8,13±0,67	7,76±0,40	8,03±0,40	7,72±0,65	7,76±0,40	7,87±0,32
Hemoglobina (g/dL)	11,23±1,01	10,72±0,36	11,25±0,51	10,93±1,05	11,15±0,07	11,22±0,54
Hematócrito (%)	42,31±4,09	39,98±1,43	42,22±2,07	40,06±4,21	41,1±0,56	41,7±2,28
VCM (fm³)	51,95±0,99	51,54±0,99	52,55±0,54	51,8±1,11	53,3±0,14	44,38±19,20
HCM (pg)	13,81±0,17	13,84±0,25	14±0,08	14,13±0,23	14,45±0,07	14,16±0,32
CHCM (g/dL)	26,56±0,43	26,82±0,27	26,65±0,23	27,3±0,4	27,15±0,21	26,94±0,21
Leucócitos (mil/mm ³)	4,48±1,23	3,48±2,06	5,65±1,76	7,36±1,97	5,3±0,98	3,78±0,66
Plaquetas (mil/mm ³)	1297,6±348,11	1293,8±174,93	1397,5±190,66	1073±105,01	1108±272,94	1161,6±54,99

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

A obesidade é caracterizada como uma doença crônica de baixo estado inflamatório, representada pela hipertrofia e hiperplasia de adipócitos, sendo estes relacionados à presença das alterações metabólicas observadas na doença. Células de defesa, como leucócitos, estão correlacionadas ao perfil inflamatório da doença, sendo a contagem das mesmas um diferencial para a visualização dessas alterações metabólicas.

A partir de uma gota de sangue retirada da cauda do animal foi possível realizar a contagem total de células por esfregaço em lâmina, e assim, contabilizar o número de leucócitos presentes como: eosinófilos, neutrófilos e células mononucleares. Na figura 19 é possível observar que essa contagem não apresentou diferença estatística entre grupos, mostrando que a alimentação e o tratamento entre grupos não apresentaram um perfil de resposta celular específico.

Figura 19 - Contagem total de células por esfregaço em lâmina. Foram identificados eosinófilos, neutrófilos e células mononucleares dos grupos dieta normolipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta hiperlipídica + salina (10 mg/kg/dia) (n=6), dieta normolipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=5), dieta hiperlipídica + tratamento com sibutramina 10 mg/kg/dia (n=6), dieta normolipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=4) e dieta hiperlipídica + consumo de chá verde 10 mg/kg/dia (n=7).



Os resultados foram obtidos através da média \pm desvio padrão, e a comparação entre grupos foi feita através do ANOVA one-way não paramétrico Turkey's multiple comparison test, onde $p < 0.05$.

Fonte: (Do próprio autor, 2018)

6 DISCUSSÃO

6.1 EGCG

A cromatografia líquida de ultra eficiência é a técnica de separação mais comumente aplicada para análise de adulterantes farmacêuticos em suplementos alimentares, em particular para aqueles utilizados para perda de peso (VIEIRA, NAAMURA e NOGUTI, 2002).

As catequinas são ésteres do ácido gálico, como a EGCG que estão presentes no chá verde, assim como a cafeína, teofilina e teobromina. As amostras identificadas nos cromatogramas das figuras 3, 4, 5, 6 e 7 (A1a, A1b, A2a, A2b, A3a, A3b, B1a, B1b, B2a, B2b, C1a, C1b, C2a, C2b, D1a, D1b, D2a, D2b, Ea e Eb) apresentaram cromatogramas UV/Vis-DAD com sobreposição da presença do marcador catequina EGCG semelhante ao cromatograma padrão da catequina (figura 7).

Estudos que avaliaram a qualidade de suplementos alimentares a base de chá verde atentaram para problemas relacionados aos teores de EGCG e cafeína declarados nos rótulos dos produtos. Seeram et al. (2006), avaliaram a qualidade dos suplementos alimentares de chá verde, onde foi verificado que seis das onze amostras avaliadas apresentavam que as descrições dos níveis de catequina possuíam níveis menores de EGCG em comparação às informações descritas nos rótulos. Já Manning e Roberts (2003), também apontaram problemas na qualidade dos suplementos alimentares à base de chá verde, onde foi constatado que os teores de catequina em sete produtos comerciais analisados foram menores do que o declarado em rótulo.

A tabela 8 apresenta os valores da catequina EGCG em massa por massa (mg/g) nos chás verdes adquiridos na apresentação farmacêutica cápsula. Não foi encontrado, nos produtos, informações que alegavam os valores ou quantidades dos níveis da catequina EGCG no rótulo dos mesmos ou na faixa de informação nutricional. Dentre as onze amostras avaliadas, as marcas A, B e C (em todos os lotes analisados) foram as que apresentaram os maiores níveis de catequina encontrados nestes produtos comercializados em cápsula, corroborando com os dados encontrados na literatura, onde produtos distribuídos como chá verde apresentaram até 58% (% m/m) de EGCG (SEERAM et al., 2006; MANNING e ROBERTS, 2003).

Na tabela 9 foi possível observar os níveis encontrados nos chás verdes para a catequina EGCG (mg/g) convertida para a dose diária de consumo recomendada pelos

fabricantes. Os valores apresentam doses diárias recomendadas elevadas corroborando com dados encontrados na literatura (SEERAM et al., 2006; MANNING e ROBERTS, 2003).

6.2 Contaminantes inorgânicos

Em um total de onze amostras analisadas de chás verdes em cápsulas foi observado que as concentrações dos elementos As e Cd encontraram-se dentro dos limites máximos permitidos (LMP) por legislação, e as marcas A (todos os lotes), B (todos os lotes), D (lote 1) e E (lote único) indicaram concentrações do elemento chumbo acima do limite máximo permitido pela legislação vigente (tabela 12).

Elementos traço em plantas medicinais podem estar presentes em diferentes concentrações, e esses níveis são influenciados por fatores como: tipo de planta, tipo de solo, clima, uso de fertilizantes e de agrotóxicos na plantação. Segundo Pereira Júnior (2016), a presença de contaminantes inorgânicos em plantas é decorrente da presença de um solo ácido, onde esses elementos estão em maior disponibilidade, o que contribui para a absorção destes pelas raízes (PEREIRA JÚNIOR, 2016).

Zhong et al. (2016) mostraram que os níveis de chumbo encontrados em chás são muito dispersos, onde há concentrações de 0,48 a 10,57 mg/Kg. Os autores relataram que as menores concentrações do elemento chumbo foi observada nos chás de jasmine (0,48 mg/Kg), enquanto que as maiores concentrações foram observadas em chás verdes (10,57 mg/Kg). Além disso, foi observado que as concentrações entre chás provenientes da *Camellia sinensis* são diferentes entre si, onde o chá branco apresentou níveis de chumbo em concentração 0,51 mg/Kg, o chá oolong com concentração em 2,45 mg/Kg, e o chá verde com concentração de 4,75 mg/Kg, mostrando que, talvez, o nível da presença desse elemento inorgânico esteja relacionado com o processo de obtenção do produto (ZHONG et al., 2016).

Os chás são capazes de absorver elementos essenciais e não essenciais como o chumbo através do solo, água e partículas suspensas no ar atmosférico, acumulando estes em suas folhas. Em países dos continentes europeu, oceânico, asiático e americano, a determinação para níveis de chumbo pelas legislações locais é diferente das determinadas pela legislação brasileira (0,6 mg/Kg) (BRASIL, 2013), como: 5 mg/Kg na China (ZHONG et al., 2016), 10 mg/Kg na Austrália, Canadá e Índia, e 20 mg/Kg no Japão (SANTOS et al., 2015).

6.3 Ensaio de obesidade

O chá verde é um produto conhecido mundialmente pelas suas propriedades no auxílio na perda de peso, com atividade hipoglicêmica e hipocolesterolêmica. Estudos realizados com o produto chá verde, constituído com todas as catequinas e cafeína são escassos, pois na literatura há uma maior prevalência de estudos que abordam as funções da catequina EGCG, por ser a catequina que possui maior atividade biológica com propriedade anti-inflamatória.

Nishiumi et al. (2010) utilizaram em seu estudo camundongos da linhagem C57BL6/J com dieta normolipídica e hiperlipídica, onde os animais foram tratados com uma infusão das folhas do chá verde (*Camellia sinensis*), mostrando que assim como foi observado em nosso estudo, a dieta hiperlipídica foi capaz de levar a obesidade, com um aumento de peso corporal, significativo, nos animais quando comparados aos animais do grupo dieta normolipídica. Quando os animais foram suplementados por 14 semanas com a infusão das folhas do chá verde foi observado que o tratamento foi capaz de reduzir o volume de peso corporal no grupo dieta hiperlipídica tratados com chá verde, quando comparado ao grupo controle (NISHIUMI et al., 2010), porém o mesmo não foi observado em nosso estudo, onde nossos animais, tratados com chá verde por 4 semanas não apresentaram perda de peso corporal ou proteção no ganho de peso.

Em um estudo publicado em 2016, foi realizada uma infusão com 5 gramas das folhas de chá verde (*Camellia sinensis*) imersas em 100 mL de água fervente por 1 min, a fim de mimetizar o preparo tradicional do chá pela população chinesa. Essa infusão foi ofertada para os animais que consumiram uma dieta hiperlipídica durante 13 semanas. No decorrer do estudo, observou-se durante as quatro primeiras semanas de tratamento que não houve significância estatística entre os grupos dieta hipolipídica, dieta hiperlipídica e dieta hiperlipídica tratados com chá verde, onde o peso corporal entre grupos permaneceu igual. Foi somente a partir da sexta semana de tratamento que pode ser observado que o grupo dos animais tratados com o chá verde apresentaram uma proteção, significativa, no ganho de peso corporal em comparação aos animais da dieta hiperlipídica que perdurou-se até o final da 13ª semana de tratamento (LIU et al., 2016).

Jang et al. (2013) mostraram que animais da linhagem C57BL6/J tratados com 50 mg/Kg por 10 semanas com extrato de chá verde (EGCG) apresentaram significância estatística somente na décima semana de tratamento, mostrando que o extrato de chá verde na dose de 50 mg/Kg por dia não foi capaz de promover proteção ou redução de ganho de peso corporal antes da 10ª semana de tratamento (JANG et al., 2013).

Segundo Nomura et al. (2015), animais obesos tratados com infusão das folhas de chá verde não apresentaram diferença estatística, ao final de 4 semanas, no tratamento com chá verde em relação aos níveis plasmáticos de colesterol total, mostrando que a bebida não foi capaz de interferir positivamente na redução dos níveis de colesterol nos animais. Em adição, estudos realizados com extrato de chá verde (EGCG) mostraram que o tratamento durante 8 semanas com 400 mg/Kg de EGCG não foi capaz de reduzir aos valores normais os níveis de colesterol plasmático (CUNHA et al., 2013).

Estudos indicam que as catequinas do chá verde são capazes de regular a expressão de IGF-1 em adipócitos, através da inibição da expressão de IGF-1 que é responsável pela diferenciação de adipócitos. Além disso, as catequinas são capazes de regular a expressão de insulina, sugerindo que elas são capazes de mimetizar a ação da insulina no músculo esquelético, enquanto que no tecido adiposo, as catequinas são capazes de inibir a ação da insulina. Animais obesos tratados com extrato de chá verde (415 mg/L de EGCG) durante 14 semanas apresentaram redução nos níveis de glicose plasmática, quando comparados ao grupo controle (UEDA e ASHIDA, 2012). Em contrapartida, Friedrich et al. (2012) mostraram que animais obesos tratados com 0,5% de EGCG (94% de concentração) não foi capaz de reduzir os níveis plasmáticos de glicose e de colesterol nas fases pós-absortiva e pós-prandial por todo o tratamento (UEDA e ASHIDA, 2012 e FRIEDRICH et al., 2012).

De acordo com Chen et al. (2011), a associação de uma dieta hiperlipídica resulta em altos níveis de ALT, além de promover um aumento na deposição de gordura no fígado. Com isso, observamos em nosso estudo que os animais da dieta hiperlipídica tratados com o chá verde por 4 semanas não apresentaram redução no peso corporal, e em consequência disso, não apresentando significância estatística no peso relativo do fígado entre grupos, dos grupos dieta hiperlipídica tratado com chá e normolipídica tratados com chá verde, quando comparados aos seus grupos controle. Entretanto, Chen et al. (2011) observaram que os animais obesos tratados com extrato de chá verde (EGCG) apresentaram uma redução no peso absoluto do fígado, quando comparado ao grupo controle. Em adição, os autores mostraram que os animais obesos da dieta hiperlipídica tratados com o extrato de chá verde apresentaram um menor percentual de gordura visceral (mesentérica, epididimal e retroperitoneal) quando comparado ao grupo controle (SANTAMARINA et al., 2015, CHEN et al., 2011 e BOSE et al., 2010).

Níveis plasmáticos de AST, ALT e ureia são efetivos indicadores de injúria hepática, como esteatose hepática não alcoólica. Segundo Mak-Soon Lee (2009), o tratamento com 2 e 5 mg/Kg por dia de extrato de chá verde (EGCG) em animais obesos não foi capaz de reduzir

os níveis plasmáticos de AST. Em contrapartida, nossos dados mostram que a dose de 10 mg/Kg por dia foi capaz de reduzir, significativamente, os níveis plasmáticos de AST em animais obesos (tabela 13).

A obesidade é uma doença de baixo estado inflamatório, onde há a presença de células com características pró-inflamatórias que contribuem para a manutenção do estado inflamatório observado na doença. Em nosso estudo, não foi possível observar mudança no perfil hematológico ou no aumento da concentração de neutrófilos e monócitos circulantes nos animais da dieta hiperlipídica tratados com chá verde em comparação aos demais grupos. De acordo com Soares (2015) em seu estudo com animais obesos em condição de hiperóxia, houve uma redução significativa de hemácias, hemoglobina e hematócrito em animais expostos à essa condição. Entretanto, Zaldivar et al. (2006) demonstraram que há uma maior concentração de neutrófilos e monócitos circulantes em obesos (SOARES, 2015 e ZALDIVAR et al., 2006).

7 CONCLUSÃO

A presença da catequina EGCG é conhecido como um dos marcadores principais para a identificação do produto como chá verde (*Camellia sinensis*). Nas análises realizadas por cromatografia líquida com detector UV/Vis-DAD, as marcas A, B, C, D e E em todos os lotes analisados, exceto a amostra F, apresentaram um perfil cromatográfico semelhante ao apresentado pelo padrão da catequina EGCG. Entretanto, foi observado que os produtos que continham como ingrediente principal o chá verde (*Camellia sinensis*) - marcas A, B e C, continham os maiores valores em mg/g da catequina EGCG no produto.

Em nossos achados, as amostras de chá verde comercializadas em cápsula contêm desde um único ingrediente, o chá verde, a vários outros como a acerola, vitaminas e minerais. Segundo a análise realizada por GFAAS para os elementos As, Cd e Pb, identificou-se que todas as amostras para o As e o Cd encontraram-se dentro dos limites máximos permitidos por legislação. Entretanto, para o elemento Pb, encontrou-se que as marcas A (todos os lotes), B (todos os lotes), D (lote 1) e E (lote único) apresentaram limites máximos permitidos acima do estipulado pela legislação brasileira.

O ensaio farmacológico com animais induzidos à obesidade mostrou que o tratamento com chá verde por 4 semanas não foi capaz de proteger ou reduzir o ganho de peso corporal dos animais obesos que consumiram uma dieta hiperlipídica. Entretanto, observou-se que o chá verde apresentou um perfil de proteção no ganho de peso corporal em relação aos animais que consumiram uma dieta normolipídica e foram tratados com chá verde.

REFERÊNCIAS

- ABOURASHED, E.A.; ROBERSON, C.L.A.; ELSHARKAWY, N. Content variation of catechin markers, total phenolics and caffeine in green tea dietary supplements. **Journal of Dietary Supplements**, p.1-14, 2014.
- AFZAL, M.; SAFER, A.M.; MENON, M. Green tea polyphenols and their potential role in health and disease. **Inflammopharmacology**, v.23, p.151-161, 2015.
- ALBUQUERQUE, K. F. F. S. et al. Green tea polyphenol extract in vivo attenuates inflammatory features of neutrophils from obese rats. **European Journal of Nutrition**, 2015.
- AMARAL, O.; PEREIRA, C. Obesidade da genética ao ambiente. **Educação, Ciência e Tecnologia**, Portugal, n. 34, p.311-322, abr. 2008.
- ANAL, J. M. H. Trace and essential elements analysis in *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf samples by graphite furnace-atomic absorption spectroscopy and its health concern. **Journal of Toxicology**, 2014.
- ANDRIOLO, D. S. M. et al. Investigation on the occurrence of anorexigens, benzodiazepines and antidepressants in the weight-reducer phytotherapy formulations. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 1, p. 148-52, 2012.
- ANJOS, L. A. **Obesidade e saúde pública**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2006.
- ANTUNA-PUENTE, B. et al. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. **Diabetes & Metabolism**, v.34, p. 2-11, 2008.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA. **Diretrizes**: associação das diretrizes para o tratamento farmacológico da obesidade e do sobrepeso. Rio de Janeiro: SBEM, 2010.
- BAE, S.K. et al. Cytochrome PP450 2B6 catalyzes the formation of pharmacologically active sibutramine (N-{1-[1-(4-chlorophenyl) cyclobutil]-3-methylbutyl}-N,N-dimethylamine) metabolites in human liver microsomes. **Drug metabolism and Disposition**, v.38, p.1679-88, 2008.
- BARTELS, C.L.; MILLER, S.J. Dietary supplements marketed for weight loss. **Nutrition Clinical Practice**, v.18, p.156-69, 2003.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS, J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v.53, n. 5, 2009.

BLUMENTHAL, M. **The American botanical council: the abc clinical guide to herbs**. Austin, TX, 2013. ISBN: 3-13-132391-4.

BOSE, M. et al. The major green tea polyphenol, (-)-epigallocatechin-3-gallate, inhibits obesity, metabolic syndrome, and fatty liver disease in high-fat-fed mice. **The Journal of Nutrition**, p. 1677-83, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Avaliação de eficácia e segurança dos medicamentos inibidores do apetite**. Brasília, 2011.

_____. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE; 2010a.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Esclarecimentos sobre a Regulação de Chás. **Informe Técnico**, Brasília, n. 45, 28 dez. 2010b.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 27, de 06 de agosto de 2010. Dispõe sobre as categorias de alimentos e embalagens isentos e com obrigatoriedade de registro sanitário. Brasília, 2010c.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 277, de 22 de setembro de 2005. Aprova o “Regulamento Técnico para Café, Cevada Chá, Erva Mate e Produtos Solúveis”. Brasília, 2005.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 23, de 15 de março de 2000. Dispõe sobre o manual de procedimentos básicos para registro e dispensa da obrigatoriedade de registro de produtos pertinentes a área de alimentos. Brasília, 2000.

_____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada RDC nº 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos e ou novos ingredientes. Alimentos. Brasília, 1999.

_____. Decreto nº 273, de 2014. Susta a RDC No 52, de 6 de outubro de 2011 que dispõe sobre a proibição do uso das substâncias anfepramona, femproporex e mazindol, seus sais e isômeros. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 2014a.

_____. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 1990.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria GM nº. 3.916, de 30 de outubro de 1998. Aprova a Política Nacional de Medicamentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 1998.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Decreto nº. 5813, de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências. Brasília, 2006a.

_____. Ministério da Saúde. Portaria 971, de 03 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde. Brasília, 2006b.

_____. Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde**: vigilância de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico (VIGITEL). Brasília, 2017.

_____. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC n 41 de 05 de agosto de 2014. Dispõe sobre oficialização de novo lote de substância química de referência da farmacopeia brasileira. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 2014b.

_____. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. 2014c.

_____. Resolução da Diretoria Colegiada. RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos. 2013.

CHAVES, A. S. **Estabelecimento de um modelo experimental de obesidade em camundongos para estudo da atividade farmacológica de fármacos sintéticos e naturais com ação antiobesidade**. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2016.

CHEN, C. Y. et al., Ghrelin gene products and the regulation of food intake and gut motility. **Pharmacological Reviews**, v.61, n.4, p.430-481, dez. 2009.

CHEN, S., OSAKI, N., SHIMOTOYODOME, A. Green tea catechins enhance norepinephrine-induced lipolysis via a protein kinase A-dependent pathway in adipocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 461, p. 1-7, 2015.

CHEN, Y. K. et al. Effects of green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate on a newly developed high-fat/western-style diet-induced obesity and metabolic syndrome in mice. **Journal of Agriculture and Food and Chemistry**, n. 21, v. 59, p. 11862-11871, 2011.

COSTA, E.A. A Vigilância sanitária e a saúde do consumidor. In: ROUQUAYROL, M.Z.; ALMEIDA FILHO, N.A. **Epidemiologia e saúde**. 5. ed. Rio de Janeiro: MEEDSI-editora Médico Científica, 1999. p.327-352.

CUNHA, C.A. et al. Green tea extract supplementation induces the lipolytic pathway, attenuates obesity, and reduces low-grade inflammation in mice fed a high-fat diet. **Mediators of Inflammation**, 2013.

DEFÁVERI, M. A. S. et al. Quality evaluation of sibutramine hydrochloride capsules compounded in pharmacies. **Ciências da Saúde**, Santa Maria, v.13, n.1, p. 71-83, 2012.

DIAS, P. C. et al., Obesidade e políticas públicas: concepções e estratégias adotadas pelo governo brasileiro. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 33, n. 7, 2017.

EUROPEAN UNION. Assessment report on *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, non fermentatum folium. Committee on Herbal Medicinal Products, nov. 2013.

FEIGHNER, S. D. et al., Receptor for motilin identified in the human gastrointestinal system. **Science**, v. 284, p. 2184-8, 1999.

FERRANTE, A. W. Obesity-induced inflammation: a metabolic dialogue in the language of inflammation. **Journal of Internal Medicine**, v. 262, p. 408-414, 2007.

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 50, n. 2, p.216 – 229, 2006.

FRIEDMAN, J. M. The function of leptin in nutrition, weight and physiology. **Nutrition Review**, v.60, p. 1-14, 2002.

FRIEDRICH, M. et al. Acute effects of epigallocatechin gallate from green tea on oxidation and tissue incorporation of dietary lipids in mice fed a high-fat diet. **International Journal of Obesity**, v.36, p 735-743, 2012.

GIORDANO, A.; FRONTINI, A.; CINTI, S. Convertible visceral fat as a therapeutic target to cur obesity. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 15, 2016.

GIRALDEZ, V. Z. R. **Avaliação do papel da imunidade adaptativa na obesidade**: estudo experimental em animais. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina da USP, São Paulo, 2014.

GUIMARÃES, D. E. D. et al., Adipokines: a new view of adipose tissue. **Revista de Nutrição**, v.20, n.5, p.549-559, 2007.

GUNDERT-REMY, U. et al. High exposure to inorganic arsenic by food: the need for risk reduction. **Archives of Toxicology**, v.89, 2015.

HAN, D.W. et al. Non-frozen preservation of mammalian tissue using green tea polyphenolic compounds. **Biomedical Materials**, 2006.

HARIRI, L., THIBAUT, N. High-fat diet induced obesity in animal models. **Nutrition Research Review**, 2010a.

HARIRI, N., GOUGEON, R., THIBAUT, L. A highly saturated fat-rich diet is more obesogenic than diets with lower saturated fat content. **Nutrition Research**, v. 30, p. 632 – 643, 2010b.

HARMS, M.; SEALE, P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. **Nature Medicine**, n. 10, v. 19, p. 1252-62, 2013.

HEBER, D. et al. Green tea, black tea, and oolong tea polyphenols reduce visceral fat and inflammation in mice fed high fat, high-sucrose obesogenic diets. **The Journal of Nutrition**, v.144, n.9, p 1385-93, 2014.

HERNÁNDEZ-FIGUEROA, T.T.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, E. e SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J. The green tea, a good choice for cardiovascular disease prevention? **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.54, n.4, p. 38-94, 2004.

HERRERA, B.M.; LINDGREN, C. M. The Genetics of obesity. **Current Diabetes**, v.10, p.498-505, 2010.

HOWARD, A. D. et al., Enhanced leptin sensitivity and attenuation of diet-induced obesity in mice with haploinsufficiency of Socs3. **Nature Medicine**, v.10, n.7, p.734-738, jul. 2004.

HU, H.C. et al. IGF-II stimulation of 3T3-L1 pre-adipocyte mitogenesis via the 67-kDa laminin receptor, but not AMP-activated protein kinase pathway. **Molecular Nutrition and Food Research**, v.56, p.580-592, 2012.

HUANG, J et al., The anti-obesity effects of green tea in human intervention and basic molecular studies. **European Journal of Clinical Nutrition**, p. 1-13, 2014.

JAMES, Z. et al. Microencapsulation of green tea extracts and its effects on the physico-chemical and functional properties of mango drinks. **International Journal of Basic & Applied Sciences**, v.16, n.2, 2016.

JANG, H.J, RIDGEWAY, S.D e KIM, J. Effects of the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate on high fat diet-induced insulin resistance and endothelial dysfunction. **American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism**, v.305, n. 12, p 1444-51, 2013.

JANLE, E. M. et al. Green tea increases the concentration of total mercury in the blood of rats following an oral fish tissue bolus. **Biomedicine Research International**, v.6, 2015.

JARUP, L. Hazards of heavy metal contamination. **British Medical Bulletin**, v.68, p.167-182, 2003.

JOHNSON, R.; BRYANT, S. HUNTLEY, A.L. Green tea and green tea catechin extracts: an overview of the clinical evidence. **Maturitas**, v.73, n.4, p.280-287, 2012.

JUN, X.; ZHAO, X.; ZHENG, W. A review of the antiviral role of green tea catechins. **Molecules**, v.22, n.8, 2017.

HEIKER, J.T. Vaspin (serpinA12) in obesity, insulin resistance, and inflammation. *Journal of Peptide Science*, v.20, p.299-306, 2014.

KIM, N. H. et al. Green tea seed oil reduces weight gain in C57BL/6J mice and influence adipocyte differentiation by suppressing peroxisome proliferator-activated receptor- γ . **European Journal of Physiology**, v. 457, p. 293-302, 2008.

KLAUS, S. et al. Epigallocatechin gallate attenuates diet-induced obesity in mice by decreasing energy absorption and increasing fat oxidation. **International Journal of Obesity**, v. 29, p. 615-23, 2005.

KOJIMA, M. et al., Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor. Trends. **Endocrinology of Metabolism**, v.12, p.118-122, 2001.

KOPELMAN, P. G. Obesity as a medical problem. **Nature**, v. 404, p. 635-643, abr. 2000.

KU, H.C. Green tea (-)epigallocatechin gallate suppresses IGF-I and IGF-II stimulation of 3T3-L1 adipocyte glucose uptake via the glucose transporter 4, but not glucose transporter 1 pathway. **General and Comparative Endocrinology**, v.199, p.46-55, 2014.

LAO, W. et al. Comparison of cytotoxicity and the anti-adipogenic effect of green tea polyphenols with epigallocatechin-3-gallate in 3T3-L1 preadipocytes. **The American Journal of Chinese Medicine**, v.43, n.6, p.1177-1190, 2015.

LEÃO, A. L. M.; SANTOS, L. C. Consumo de micronutrientes e excesso de peso: existe relação? **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.15, n. 1, 2012.

LEE, P. et al., High prevalence of brown adipose tissue in adult humans. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.96, n. 8, p. 2450-5, ago. 2011.

LEITE, L. D; ROCHA, E. D. M.; BRANDÃO NETO, J. Obesidade: uma doença inflamatória. **Revista Ciência & Saúde**, Porto Alegre, v.2, n.2, p. 85-95, jul./dez. 2009.

LI, H. et al. Green tea (-)epigallocatechin-3-gallate counteracts daytime overeating induced by high-fat diet in mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, 2016.

LI, L. et al. A comparison of the potential health risk of aluminum and heavy metals in tea leaves and tea infusion of commercially available green tea in Jiangxi, China. **Environmental Monitoring and Assessment**, p.187-228, 2015.

LIN, S. et al., Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57BL/6J mice. **International Journal of Obesity**, v. 24, p. 639-646, 2000.

LIN, J.; DELLA-FERA, M.A.; BAILE, C.A. Green tea polyphenol epigallocatechin gallate inhibits adipogenesis and induces apoptosis in 3T3-L1. **Obesity Research**, v.13, n.6, p.982-990, 2005.

LIU, H.S. et al. Inhibitory effect of green tea (-)epigallocatechin gallate in resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes depends on the ERK pathway. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v.290, p.273-281, 2006.

MAGNA, G. A. M. et al. Avaliação da exposição ao Pb e Cd em crianças de 0 a 17 anos por consumo de alimentos vegetais cultivados em solos contaminados no município de Santo Amaro (BA). **Revista de Engenharia Sanitária e Ambiental**, 2014.

MALUF, D. F.; PONTAROLO, R. Determinação de sibutramina em formas farmacêuticas através de espectroscopia no infravermelho com refletância difusa e métodos de calibração multivariada. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 649-52, 2010.

MANNING, J; ROBERTS, J. C. Analysis of catechin content of commercial green tea products. **Journal of Herbal Pharmacotherapy**, v.3, n.3, p.19-32, 2003.

MARTEL, J. et al. Anti-obesity and antidiabetic effects of plants and mushrooms. **Nature Reviews-Endocrinology**, p. 1-12, 2016.

MASHIKO, S. et al. Effects of a novel Y5 antagonist in obese mice: Combination with food restriction or sibutramine. **Obesity**, v.16, p. 1510-1515, 2008.

MAZZANTI, G; Di SOTTO, A.; VITALONE, A. Hepatotoxicity of green tea: an update. **Archives of Toxicology**, v.89, p.1175-1191, 2015.

MONEGO, E. T. et al. Diferentes terapias no tratamento da obesidade em pacientes hipertensos. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v.66, n.6, p.343-347, 1996.

NISHIUMI, S. et al. Green and black tea suppress hyperglycemia and insulin resistance by retaining the expression of glucose transporter 4 in muscle of high-fat diet-fed C57BL/6J mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p 12916-923, 2010.

NISHIYAMA, M. F. et al. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 30, p. 191-196, maio 2010. Supl.1.

NOMURA, S. et al. Effects of flavonol-rich green tea cultivar (*Camellia sinensis* L.) on plasma oxidized LDL levels in hypercholesterolemic mice. **Food & Nutrition Science**, v.80, n.2, p.360-362, 2016.

OBERHOLZER, H. M.; SCHOOR, C.V.D.; BESTER, M.J. Sibutramine, a serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor, causes fibrosis in rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 40, p. 71-76, 2015.

OLIVEIRA, A. P. **Avaliação da influência dos macronutrientes na bioacumulação o chumbo pela *Eichhornia crassipes***. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química (TOL)) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo, 2012.

OLIVEIRA, G. B. **Estudo do perfil genético de linhagens de camundongos mantidos nos biotérios de criação de duas instituições parceiras na Rede Mineira de Bioterismo**. Dissertação (Mestrado em genética) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2013a.

OLIVEIRA, M. L. **Estimativa dos custos da obesidade para o Sistema Único de Saúde do Brasil**. Tese (Doutorado em Nutrição Humana) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2013b.

OZVURAL, E. B.; HUANG, Q.; CHIKINDAS, M. L. The comparison of quality and microbiological characteristic of hamburger patties with green tea extract using three techniques: direct addition, edible coating and encapsulation. **Food Science and Technology**, v.68, 2016.

PEREIRA JÚNIOR, J. B.; DANTAS, K. G. F. Evaluation of inorganic elements in cat's claw teas using ICP OES and GF AAS. **Food Chemistry**, v. 196, 2016.

PERFEITO, J.P.S. **O registro sanitário de medicamentos fitoterápicos no Brasil: uma avaliação da situação atual e das razões de indeferimento**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

PINTO, D. C. M. **A fitoterapia no tratamento da obesidade**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências de Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013.

POULOS, S. P.; HAUSMAN, D. B.; HAUSMAN, G. J. The development and endocrine functions of adipose tissue. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 323, p. 20-34, 2010.

PUGLIA, C. R. Indicações para o tratamento operatório da obesidade mórbida. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 50, n. 2, 2004.

ROMERO, C. E. M e ZANESCO, A. O papel dos hormônios leptina e grelina na gênese da obesidade. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n. 1, p. 85-91, 2006.

ROSEN, E. D e SPIELGEMAN, B. M. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. **Nature**, v. 444, p. 847-853, dec. 2006.

ROSENFELD, S. **Fundamentos da vigilância sanitária**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz. 2000, p.15-16.

SAITO, S.T. **Estudo químico e avaliação da atividade antioxidante de chá verde brasileiro (Camellia sinensis var. assarnica) cultivar IAC-259**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SAMPAIO, T. M. **Influência da obesidade sobre a concentração das adipocitocinas e a LDL (-) em adolescentes**. Dissertação (Mestrado em Ciências). Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2011.

SANTAMARINA, A. B. et al. Decaffeinated green tea extract rich in epigallocatechin-3-gallate prevents fatty liver disease by increased activities of mitochondrial respiratory chain complexes in diet-induced obesity mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 26, p. 1348-1356, 2015a.

SANTAMARINA, A.B. et al. Green tea extract rich in epigallocatechin-3-gallate prevents fatty liver by AMP activation via LKB1 in mice fed a high-fat diet. **PLoS One**, v.10, n.11, 2015b.

SANTOS, L. M. G. et al., Determination of arsenic, cadmium and lead concentration in teas, commercialized in Rio de Janeiro, Brazil, and their transfer to tea infusion. **Biological and Chemical Research**, v.1, p. 102-108, 2012.

SANTOS, L. M. G.; GONÇALVES, J. M.; JACOB, S. C. Determinação simultânea de As, Cd e Pb em amostras de água purificada para hemodiálise por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, após otimização multivariada baseada no uso de planejamento experimental. **Química Nova**, v. 31, n. 5, 2008.

SANTOS, R. L. et al. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 4, p.486-491, 2011.

SCHMITZ, W. et al. Green tea as a chemoprotector. Semina: **Revista de Ciências Biológicas e da Saúde**, v.26, n.2, p.119-130, 2005.

SEERAM, N. P. et al. Catechin and caffeine content of green tea dietary supplements and correlation with antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 5, p. 1599-1603, 2006.

SENGER, A.E.V.; SCHWANKE, C.H.A.; GOTTLIEB, M.G.V. Green tea (*Camellia sinensis*) and its functionals properties on transmissible chronic diseases. **Scientia Medica**, v.20, n.4, p.292-300, 2010.

SHARMA, S.K. et al. Combined effect of epigallocatechin gallate and triclosan on enoyl-ACP reductase of mycobacterium tuberculosis. **Biochemical and biophysical research communications**, v.368, n.1, p.12-17, 2008.

SHIXIAN, Q. et al. Green tea extract thermogenesis-induced weight loss by epigallocatechin-gallate inhibition of Catechol-O-Methyltransferase. **Journal of Medicinal Food**, v.9, n.4, p.451-458, 2006.

SMITH, R. G. et al., Growth hormone secretagogue receptor family members and ligands. **Endocrine**, v.14, p.9-14, 2001.

SOARES, N. P. **Efeitos da associação entre uma dieta rica em carboidratos refinados e à hiperóxia sobre o desequilíbrio redox e a inflamação em camundongos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLISMO. **Obesidade**. Rio de Janeiro, 2014.

TAVARES, A.D. **Determinação multielementar de elementos traços em radiofármacos produzidos na diretoria de radiofarmácia por espectrometria de emissão por plasma**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, 2013.

TEDESCHI, E.; SUZUKI, H.; MENEGAZZI, M. Anti-inflammatory action of EGCG, the main component of green tea, through STAT-1 inhibition. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.973, p.435-437, 2002.

UEDA, M. et al. Tea catechins modulate the glucose transport system in 3T3-L1 adipocytes. **Food & Function**, v.1, n.2, p.133-41, 2010.

UEDA, M.; ASHIDA, H. Green tea prevents obesity by increasing expression of insulin-like growth factor binding protein-1 in adipose tissue of high-fat diet-fed mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p 8917-923, 2012.

VIEIRA, J. G. H.; NAAMURA, O. H.; NOGUTI, K. O. Aplicação da cromatografia líquida de alta performance como método preparativo para a dosagem de esteroides hormonais por RIE: dosagens de 17OH-progesterona e diidrotestosterona. **Arquivos Brasileiros de endocrinologia e Metabologia**, v. 46, n.1, 2002.

VIJGEN, G. H. E. J. et al. Brown adipose tissue in morbidly obese subjects. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, 2011.

VULCANO, I.R.C.; SILVEIRA, J.N.; ALZAREZ-LEITE, E.M. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 425-431, 2008.

YUN, S.C. et al. Mesenchymal stem cells for bronchopulmonary dysplasia: phase 1 dose-escalation clinical trial. **The Journal of Pediatrics**, v.164, n.5, p.966-972, 2014.

WANDERLEY, E. N.; FERREIRA, V. A. Obesidade: uma perspectiva plural. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 15, n. 1, p. 185-194, 2010.

WANG, C.T. et al. The effects of green tea (-) epigallocatechin-3-gallate on reactive oxygen species in 3T3-L1 pre-adipocytes and adipocytes depends on the glutathione and 67 kDa laminin receptor pathways. **Molecular Nutrition and Food Research**, v.53, p.349-360, 2009.

WANNMACHER, L. **Obesidade como fator de risco para morbidade e mortalidade: evidências sobre o manejo com medidas não medicamentosas.** Organização Pan Americana de Saúde, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Obesity: preventing and managing the global epidemic.** Geneva, 2000.

_____. **Exposure to cadmium:** a major public health concern. 2010a.

_____. **Exposure to lead:** a major public health concern. 2010b.

_____. **Exposure to arsenic:** a major public health concern. 2010c.

_____. **Health topics:** Obesity. 2015.

_____. **Obesity:** preventing and managing the global epidemic. Geneva, 2000.

WILASCO, M. I. A. **Concentração de grelina, leptina, insulina e glicose em crianças eutróficas previamente hípidas.** Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente). Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

WOLFRAM, S.; WANG, Y.; THIELECKE, F. Anti-obesity effects of green tea: from bedside to bench. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 50, p.176-187, 2006.

WU, B.T. et al. The apoptotic effect of green tea (-)Epigallocatechin gallate on 3T3-L1 preadipocytes depends on the Cdk2 pathway. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.53, p.5695-5701, 2005.

ZALDIVAR, F. et al. Body fat and circulating leukocytes in children. **International Journal of Obesity**, London, v.30, 2006.

ZHAI, Q.; NARBAD, A.; CHEN, W. Dietary strategies for the treatment of cadmium and lead toxicity. **Nutrients**, v.7, 2015.

ZHANG, Y. et al., Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v.372, p.425-432, 1994.

ZHONG, W.S.; REN, T.; ZHAO, L.J. Determination of Pb (lead), Cd (cadmium), Cr (chromium), Cu (copper), and Ni (nickel) in Chinese tea with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, 2016.

ZOKTI, J. A. et al. Microencapsulation of green tea extracts and its effects on the physico-chemical and functional properties of mango drinks. **International Journal of Basic & Applied Sciences**, v.16, n.2, 2016.

ANEXO A – Leituras 1 e 2 das amostras de diferentes marcas e lotes de chá verde em cápsula através da técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência com detector UV-visível com arranjo de diodos.

Amostra	Leitura 1	Leitura 2
1a	82,57	81,59
1b	85,41	86,31
2a	98,57	99,80
2b	99,18	100,25
3a	151,42	152,26
3b	148,00	149,04
4a	56,82	57,58
4b	56,60	57,12
5a	7,87	7,93
5b	8,34	8,38
6a	111,36	111,74
6b	110,08	110,52
7a	166,72	168,01
7b	170,70	172,97
8a	171,11	172,94
8b	176,44	178,62
9a	236,77	235,73
9b	186,47	185,34
10a	29,70	30,13
10b	24,69	25,14
11a	2,32	2,30
11b	2,26	2,25

ANEXO B – Valores da média das concentrações para a curva de calibração em $\mu\text{g/mL}$ da catequina EGCG obtidas através da técnica de cromatografia líquida de ultra eficiência com detector UV-visível com arranjo de diodos.

$\mu\text{g/mL}$	Valores	Média
5,01	1,1276	1,1331
	1,1393	
	1,1325	
10,18	2,3321	2,3186
	2,3073	
	2,3163	
25,44	5,5698	5,6361
	5,6962	
	5,6422	
50,88	12,1059	12,0954
	12,1201	
	12,0602	
75,47	17,2547	17,3292
	17,4204	
	17,3126	
203,52	45,6320	45,9335
	46,3194	
	45,8491	
398,60	90,8646	90,9787
	91,1423	
	90,9291	
848	176,3702	175,7436
	175,1170	
	175,7630	
1020	214,8104	214,7879
	214,7429	
	214,9710	

		4	17,1	20,71	23,12	24,43	25,04	26,2	27,38	28,49	29,19	29,32	29,56	30,05	29,48	31,02	31,29	31,76	32,15	32,69
		8	19,9	22,28	23,97	25,68	27,07	28,42	29,71	30,12	30,53	31,09	31,66	32,92	33,27	34,8	36,35	37,73	39,36	39,66
H F		9	19,7	22,9	24,26	25,82	26,73	27,89	28,19	29,41	29,47	30,02	30,89	31,14	31,19	32,65	34,06	34,91	35,3	35,83
		10	19	22,54	24,58	25,46	26,56	28,35	28,87	29,43	30,22	31,35	31,63	31,91	32,41	34,59	36,23	36,82	38,15	39,07
			19,385 7	22,384 3	24,302 9	25,711 4	26,747 1	27,961 4	28,721 4	29,661 4	30,131 4	30,662 9	31,011 4	31,68	31,852 9	33,504 3	34,475 7	35,26	36,155 7	36,755 7
		Grupo/Peso	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
	4	21,2	23,42	24,25	25,76	26,73	27,58	28,67	30,23	30,34	25,94	25,94	25,94	25,94	29,79	30,26	30,58	32,01	32,03	
N F	5	17,8	19,57	19,71	20,48	21,13	22,1	23,35	24,18	25,17	25,94	25,95	26,08	26,09	26,72	27,59	27,32	28,02	29,72	
	6	18,8	21,82	23,14	22,46	25,81	27,15	27,05	28,56	29,36	30,31	30,12	29,52	29,26	28,84	32,06	32,56	32,88	33,44	
N F	7	18,1	20,57	21,65	22	22,67	23,84	25,1	26,45	26,66	26,52	27,19	27,53	27,54	27,97	28,32	29,75	29,59	29,29	
	8	17,8	21,62	22,27	24,37	25,99	26,46	26,46	27,72	28,95	29,38	29,69	30,15	29,98	30,15	30,95	31,01	31,08	31,15	
	9	16,9	22,42	24,35	25,41	25,72	26,23	27,02	28,07	29,09	29,19	29,5	29,5	28,38	30,41	31,2	31,09	31,81	30,64	
	10	18,9	20,6	22,35	22,81	23,14	24,3	25,34	25,98	27,06	28,4	29,13	28,81	28,09	29,38	29,65	29,75	29,79	30,4	
		18,5	21,431 4	22,531 4	23,327 1	24,455 7	25,38	26,141 4	27,312 9	28,09	27,954 3	28,217 1	28,218 6	27,897 1	29,037 1	30,004 3	30,294 3	30,74	30,952 9	
		Grupo/Peso	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
	1	19,8	20,85	21,49	22,95	24,42	25,37	26,29	26,53	27,73	28,41	28,86	29,28	29,56	29,75	29,64	29,17	30,09	30,62	
N F	2	19,3	20,84	21,5	22,41	24,05	24,94	25,75	26,47	28,85	30,71	30,04	31,14	30,51	31,93	33,01	32,21	32,58	34,71	
	3	18,6	21,22	22,24	24,64	25,59	25,86	26,65	27,45	27,94	29,33	27,86	28,71	29,17	29,28	29,47	29,59	29,61	29,88	
	4	17,9	20,26	21,85	23,4	24,16	25,13	26,03	26,51	27,04	27,63	27,62	28,3	28,32	28,5	28,48	28,35	28,65	27,82	
N F	5	21	24,41	27,02	27,53	28,03	28,64	29,22	30,92	30,69	32,21	31,12	31,7	32,16	32,61	33,51	33,33	32,55	33,34	
	6	16,9	20,81	22,75	23,81	25,04	25,52	26,48	27,37	28,7	30,3	30,48	30,5	30,7	31,1	31,55	31,55	31,59	31,02	
	7	19,7	21,68	21,97	22,64	24,43	24,75	25,28	26,55	27,74	28,87	29,15	30,04	30,88	30,63	31,08	30,58	30,98	31,23	

	8		18,2	19,89	21,43	22,03	23,15	23,74	24,39	25,25	27,14	28,52	28,35	28,72	29,24	29,68	29,97	29,8	29,63	30,23
N F	9		17,6	19,24	20,25	21,73	22,5	23,21	23,41	24,38	25,3	25,05	25,24	26,61	26,66	26,35	26,88	27,32	27,35	27,77
			18,777 8	21,022 2	22,277 8	23,46	24,596 7	25,24	25,944 4	26,825 6	27,903 3	29,003 3	28,746 7	29,444 4	29,688 9	29,981 1	30,398 9	30,211 1	30,336 7	30,735 6
			1,2823 6	1,4618 5	1,9054 8	1,7732 8	1,5814 7	1,5310 5	1,6186 3	1,8132 6	1,4773 2	2,0341 4	1,7675 9	1,5758 5	1,6107 9	1,8840 3	2,1205 3	1,9076 4	1,7596	2,2693 8
		Grupo/Peso	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
	1		19	20,64	22,84	24,04	25,74	26,16	27,17	28,15	29,12	29,36	29,38	28,64	29,2	29,58	29,93	29,37	30,19	31,02
	2		15,6	19,11	22,23	22,98	24,29	24,73	25,95	26,41	27,66	28,08	28,12	28,62	29,54	30,42	31,5	30,86	30,75	31,35
N F	3		17,8	20,43	21,93	21,61	23,01	24,21	25,39	26,19	27,38	28,53	28,8	29,24	30,32	30,09	30,34	30,47	30,48	31,28
	4		17,4	18,85	21,48	22,96	25,4	25,41	25,68	27,05	28,39	29,64	29,96	29,4	30,04	30,12	31,16	30,66	30,56	30,64
N F	5		20,4	22,82	24,3	25,76	26,44	27,17	27,88	28,82	30,33	30,23	31,06	31,79	31,65	30,84	31,13	31,66	32,02	31,65
	6		18,3	20,69	22,45	24,08	26,52	26,49	26,91	28,02	29,49	29,97	30,56	31,58	31,48	31,22	31,42	31,74	31,54	31,07
	7		17,9	19,89	21,12	22,29	24	25,68	25,38	27,61	27,48	27,5	27,24	27,36	28,84	28,89	29,27	29,86	29,89	29,85
N F	8		15,4	18,42	20,44	21,21	22,29	23,84	24,57	25,51	25,62	27,06	27,64	27,89	28,14	28,5	28,66	29,35	29,32	29,98
	9		18,2	20,37	22,69	23,57	23,78	24,53	24,6	25,43	26,37	27,02	27,54	27,7	27,95	28,8	29,78	29,81	29,44	30,12
	10		20,3	22,18	24,63	25,32	25,78	26,53	27,06	27,61	27,86	28,4	30,54	30,24	30,34	30,86	31	32,08	31,84	32,11
			1,6700 3	1,3896 2	1,3097 1	1,4815 9	1,4621 3	1,1182	1,1395 2	1,1569 7	1,4204	1,1823 7	1,4117 5	1,5447 5	1,2634 5	0,9536 3	0,9792 7	0,9970 4	0,9505 7	0,7484 2

ANEXO D – Tabela de peso corporal entre grupos dieta normolipídica e dieta hiperlipídica tratados com sibutramina e chá verde (10 mg/Kg) por 4 semanas.

PESO CORPORAL

Dieta Normolipídica	C1 (01)			C1 (02)			C2(01)			C3(01)			
Animais	1	2	3	1	2	3	1	2	1	2	3	3	
Semana 0 (4a)	29,83	29,24	30,6	30,92	30,01	30,48	32,91	31,69	31,41	31,72	32,45	30,91	
Semana 1 (4a)	30,26	29,92	31,74	32,03	31,39	31,68	34,01	34,03	32,34	31,19	34,4	30,94	
Semana 2 (4a)	31,36	30,62	31,9	32,85	30,33	31,4	32,86	30,04	31,91	30,65	34,12	30,61	
Semana 3 (4a)	32,17	30,5	31,54	32,9	31,88	31,62	32,29	30,09	33,92	32	33,73	32,01	
semana 4	31,75	30,39	32,05	33,32	32,11	32,16	32,44	31,36	34,04	32,74	34,84	32,37	

Dieta Hiperlipídica	C1 (01)			C1 (02)			C2(01)			C2(02)		C3(01)			
animais	1	2	3	1	2	3	1	2	3	2	3	1	2	3	4
Semana 0 (4a)	34,27	33,29	34,69	33,75	32,18	31,12	0	39,71	36,81	39,77	38,42	36,7	36,86	35,85	38,38
semana 1 (4a)	36,34	33,56	35,71	32,84	33,4	32,02	0	36,02	32,43	38,46	38,15	37,26	33,59	36,04	38,67
Semana 2 (4a)	36,59	33,71	36,71	33,18	33,64	31,98	0	36,93	33,26	39,62	39,43	37,95	34,59	37,56	39,28
Semana 3 (4a)	36,14	33,91	36,34	33,18	34,56	31,42	0	35,97	34,06	42,73	41,31	39,69	35,31	37,49	40,31
Semana 4	35,64	35,15	36,26	33,49	35,69	32,23	0	38,3	34,58	44,39	43,65	42,89	37,42	39,32	41,97

Legenda: C1 = Dieta normo OU hiperlipídica/salina; C2 = Dieta normo OU hiperlipídica/sibutramina; C3 = Dieta normo OU hiperlipídica/ Chá verde.