

Avaliação antioxidante do extrato da semente de *Hymenaea Courbaril* L. (jatobá) em camundongos tratados com acetaminofeno

Evaluación antioxidante del extracto de la semilla de *Hymenaea Courbaril* L. (jatobá) en camundongos tratados con acetaminofeno
Antioxidant evaluation of *Hymenaea Courbaril* L. (jatobá) seed extract in acetaminophen treated mice

Débora Linsbinski Pereira¹ <http://orcid.org/0000-0002-6587-0352>

Ana Paula Simões da Cunha² <http://orcid.org/0000-0002-3545-1034>

Hocelayne Paulino Fernandes³ <http://orcid.org/0000-0002-2195-2604>

Naiéle Sartori Patias¹ <http://orcid.org/0000-0002-7890-6230>

Adilson Paulo Sinhoin¹ <http://orcid.org/0000-0002-4133-8994>

Valéria Dornelles Gindri Sinhoin^{1*} <http://orcid.org/0000-0002-5070-0043>

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais, Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* de Sinop, Mato Grosso, Brasil

²Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* de Sinop, Mato Grosso, Brasil

³Programa de Pós-graduação em Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Mato Grosso, *Campus* Cuiabá, Mato Grosso, Brasil

*Autor correspondente: valeriadgindri@gmail.com

Resumo

Introdução: *Hymenaea courbaril* L. ou jatobá é usado na medicina popular, para úlceras, diarreia, inflamação, gripe, bronquite.

Objetivo: Avaliar a atividade antioxidante e hepatoprotetora do extrato das sementes jatobá contra danos induzidos por acetaminofeno.

Métodos: As sementes dos frutos foram selecionadas, lavadas e secas em estufa com circulação de ar a 60 °C e trituradas. O material foi macerado em diferentes solventes, fracionado em coluna de sílica gel por gradiente de polaridade e posterior obtenção das frações Hexânica (12,1 g), AcOEt (17,2 g) e MeOH (38,7 g), respectivamente. A fração metanólica (MeOH) e acetato de etila (AcOEt) obtidas foram usadas para investigação *in vitro*, para a determinação do potencial antioxidante (DPPH[•]) e fenóis totais. Para os testes *in vivo* a fração metanólica foi escolhida (250 mg/kg). Camundongos *Swiss* machos foram divididos em quatro grupos: controle, PCM (controle positivo - paracetamol 250 mg/kg), PCM + MeOH e MeOH. Foram realizadas as seguintes análises: superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST), glutathione reduzida (GSH), ácido ascórbico (ASA) carbonilação de proteínas e parâmetros bioquímicos do plasma (aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), glicose e colesterol).

Resultados: A fração das sementes apresentou capacidade antioxidante devido elevação dos níveis de CAT, GST, GSH e ASA nos homogeneizados hepáticos pré-tratados com PCM. O tratamento com a fração também melhorou os níveis de GSH

nos rins e reverteu o aumento de carbonilação de proteínas no cérebro dos animais. A fração não alterou os parâmetros bioquímicos do plasma.

Conclusão: Os resultados da investigação revelaram que a fração MeOH da planta protege o fígado e rins contra lesões induzidas por paracetamol pelos seus constituintes antioxidantes.

Palavras chave: estresse oxidativo; paracetamol; jatobá.

RESUMEN

Introducción: *Hymenaea courbaril* L. o jatobá se utiliza en la medicina popular para úlceras, diarrea, inflamación, gripe y bronquitis.

Objetivo: Evaluar la actividad antioxidante y hepatoprotectora del extracto de las semillas de jatobá contra daños inducidos por acetaminofeno.

Métodos: Las semillas de los frutos fueron seleccionadas, lavadas, secadas y trituradas en invernadero con circulación de aire a 60 °C. El material fue macerado en diferentes solventes, fraccionado en columna de sílice gel por gradiente de polaridad y posterior obtención de las fracciones Hexánica (12,1 g), AcOEt (17,2 g) y MeOH (38,7 g), respectivamente. La fracción metanólica (MeOH) y acetato de etila (AcOEt) obtenidas fueron usadas para investigación *in vitro*, para la determinación del potencial antioxidante (DPPH[·]) y fenoles totales. Para las pruebas *in vivo* fue elegida la fracción metanólica (250 mg / kg). Los ratones Swiss machos se dividieron en cuatro grupos: control, PCM (control positivo - paracetamol 250 mg / kg), PCM + MeOH y MeOH. Se realizaron los siguientes análisis: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión-S-transferasa (GST), glutatión reducida (GSH), ácido ascórbico (ASA) carbonilación de proteínas y parámetros bioquímicos del plasma (aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), glucosa y colesterol).

Resultados: La fracción de las semillas presentó capacidad antioxidante debido a la elevación de los niveles de CAT, GST, GSH y ASA en los homogeneizados hepáticos pretratados con PCM. El tratamiento con la fracción también mejoró los niveles de GSH en los riñones y a revertir el aumento de la carbonilación de proteínas en el cerebro de los animales. La fracción no alteró los parámetros bioquímicos del plasma.

Conclusión: Los resultados de la investigación revelaron que la fracción MeOH de la planta protege el hígado y los riñones contra las lesiones inducidas por acetaminofeno por sus constituyentes antioxidantes.

Palabras clave: estrés oxidativo; paracetamol; jatobá.

ABSTRACT

Introduction: *Hymenaea courbaril* L. or jatobá is used in folk medicine, for ulcers, diarrhea, inflammation, influenza, bronchitis.

Objective: The objective of this study was to evaluate the antioxidant and hepatoprotective activity of jatobá seeds extract against acetaminophen - induced damage.

Methods: The seeds of the fruits were selected, washed and dried in an oven with circulation of air at 60 °C and crushed. The material was macerated in different solvents, fractionated on a silica gel column by polarity gradient and subsequent fractions of hexane (12.1 g), AcOEt (17.2 g) and MeOH (38.7 g), respectively. The methanol fraction (MeOH) and ethyl acetate (AcOEt) obtained were used for *in vitro* research, for the determination of the antioxidant potential (DPPH[·]) and total phenols. For the *in vivo* tests the methanolic fraction was chosen (250 mg /

kg). Male Swiss mice were divided into four groups: control, PCM (positive control - paracetamol 250 mg / kg), PCM + MeOH and MeOH. The following analyzes were carried out: superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST), reduced glutathione (GSH), ascorbic acid (ASA), carbonylation of proteins and plasma biochemical parameters (aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), glucose and cholesterol).

Results: Seed fraction presented antioxidant capacity due to elevation of CAT, GST, GSH and ASA levels in PCM pre-treated liver homogenates. Treatment with the fraction also improved kidney GSH levels and reversed the increased carbonylation of proteins in the animal brains. The fraction did not alter the biochemical parameters of the plasma.

Conclusion: The results of the investigation revealed that the MeOH fraction of the plant protects the liver and kidneys against lesions induced by acetaminophen due its antioxidant constituents.

Keywords: oxidative stress; paracetamol; jatobá.

Recibido: 17/04/2018

Aceptado: 15/02/2020

Introdução

Hymenaea courbaril L. var *courbaril* (*H. courbaril* L.), é conhecida popularmente como jatobá, jataí, aboti-timbaí, fava-doce, jatobá-da-caatinga e farinheira. É uma espécie vegetal utilizada popularmente como carminativa, sedativa e adstringente.⁽¹⁾ Os frutos de cor escura e casca dura contêm de 2 a 6 sementes duras e lenhosas, revestidas com uma ampla oferta de pó doce amarelado, que são consumidos pela população devido a sua polpa pulverulenta ser rica em fibras, sacarose e ômega 3, podendo ser usados na preparação de lanches.^(2,3)

São descritas na literatura diversas atividades biológicas da casca da árvore, polpa dos frutos, sementes e resina, do gênero *Hymenaea*, como atividade antioxidante,^(4,5,6) antibacteriana,⁽⁷⁾ antifúngica,⁽⁸⁾ anticancerígena,⁽⁹⁾ antidiarreico e antiúlcera,⁽¹⁰⁾ antiviral,⁽¹¹⁾ larvicida,⁽¹²⁾ antitérmica,⁽¹³⁾ anticolinesterásica.⁽¹⁴⁾

As plantas medicinais são amplamente utilizadas pela população e funcionam como terapia complementar. A busca por essas plantas com potencial antioxidante tem contribuído para estudos que avaliam o efeito protetor ou de reparo ao organismo causado por estresse oxidativo induzido por produtos químicos, como é o caso do CCl₄, ou por fármacos, como por exemplo o acetaminofeno (PCM).⁽¹⁵⁾

O PCM é um analgésico amplamente usado pela população, sendo um fármaco seguro em doses terapêuticas. No entanto, a superdosagem pode causar toxicidade,^(15,16,17) e isso ocorre quando os mecanismos de proteção do organismo não são suficientes, resultando em dano hepático.⁽¹⁸⁾ O efeito tóxico está associado à metabolização do fármaco e a consequente formação excessiva do metabólico tóxico N-acetil-p-benzoquinonaimina (NAPQI), que ocasiona estresse oxidativo.^(17,19)

Quando os mecanismos de proteção endógena do organismo não estão exercendo seu efeito antioxidante de forma eficiente, os produtos naturais com potencial

antioxidante podem atuar como doador de elétrons e inibir a ação de radicais livres, bem como bloquear reações em cadeia, prevenindo assim o dano celular e o estresse oxidativo. Com isso, esta pesquisa teve por objetivo avaliar a atividade antioxidante e hepatoprotetora da fração metanólica obtida do extrato das sementes de jatobá contra danos induzidos por acetaminofeno.

Métodos

Coleta, identificação botânica e preparação do extrato

O material vegetal (frutos) foi coletado no município de Nova Canaã do Norte- MT e identificado por Ms. Ivani Kuntz Gonçalves, da Universidade Federal de Viçosa e Haroldo Cavalcante de Lima, do Jardim Botânico- Rio de Janeiro. A excisata foi depositada no Acervo Biológico da Amazônia Meridional da Universidade Federal de Mato Grosso-Campus de Sinop (ABAM/UFMT-Sinop), sob o número 4800.

As sementes foram retiradas dos frutos, selecionadas, lavadas e secas em estufa com circulação de ar por 7 dias a 60 °C, posteriormente trituradas, resultando em 3,9 kg de material vegetal. O material foi macerado com acetato de etila (AcOEt) (3x) e posteriormente com álcool etílico (EtOH) (4x), resultando em 140,1 g de extrato AcOEt e 430,6 g de extrato EtOH. O extrato EtOH foi fracionado em coluna de sílica gel por gradiente de polaridade com hexano, AcOEt e metanol (MeOH), obtendo-se as frações Hexânica (12,1 g), AcOEt (17,2) g e MeOH (38,7 g), respectivamente.

Ensaio *in vitro* de Fenóis totais e Potencial antioxidante (DPPH[•])

O potencial antioxidante foi estimado seguido a metodologia de Sousa *et al.*⁽²⁰⁾ com adaptações. O monitoramento do consumo do radical livre DPPH[•] pelas amostras e padrões, foram medidas através do decréscimo da absorbância das soluções de diferentes concentrações, lidas no espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda 515 nm. O ácido ascórbico e rutina foram utilizados como padrão nos compostos em ensaio de DPPH[•].

A quantidade de fenóis totais na fração foi determinada através da reação com Folin-Ciocalteau, de acordo com Singleton *et al.*,⁽²⁰⁾ com adaptações. A absorbância foi medida a 760 nm. O resultado foi expresso em mg de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg EAG g⁻¹).

Animais e tratamento

Todos os procedimentos com os animais estavam em conformidades com o Comitê de ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Mato Grosso, sob o número de protocolo n° 23108.781869/12-0 da CEUA-UFMT. Camundongos Swiss machos, peso médio de 32,5 g, foram obtidos do Biotério da UFMT/Cuiabá. Os 32 animais foram divididos em 4 grupos, mantidos em gaiolas, com alimentação e água em livre demanda, em biotério com controle de temperatura de 24 ± 1 °C, umidade relativa de 51 ± 2% e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro por 20 dias.

Após o período de aclimação os grupos foram divididos em: Controle; PCM, (controle positivo); PCM + MeOH e MeOH. A dose selecionada do PCM (250 mg kg⁻¹), bem como o protocolo de indução da lesão foi segundo Olaleye e Rocha,⁽¹⁹⁾ e a dose da fração MeOH (250 mg kg⁻¹) foi definida após testes prévios no laboratório (dados não mostrados). O experimento iniciou-se com a indução da lesão com PCM nos grupos PCM e PCM + MeOH, já os grupos controle e MeOH receberam água

+Tween 0,01%. Após 3 horas da indução da lesão, os grupos controle e PCM receberam água e o PCM + MeOH e MeOH receberam a primeira dose da fração MeOH. Todo o tratamento foi feito via gavagem e teve duração de sete dias com administração da fração + tween 0,01% (PCM + MeOH e MeOH) e água + tween 0,01 % (controle e PCM) uma vez ao dia. No oitavo dia os animais foram anestesiados via intraperitoneal com Ketamina 50 mg kg⁻¹, Xilaxina 2 mg kg⁻¹ e acepromazina 2 mg kg⁻¹. Foi realizada punção cardíaca nos animais para a coleta de sangue e após sacrificados para a retirada do fígado, rins e cérebro. As amostras foram congeladas à -85 °C.

Ensaio enzimáticos e não enzimáticos

A enzima superóxido dismutase (SOD) foi medida no fígado segundo Misra e Fridovich.⁽²²⁾ A absorbância foi lida a 480 nm e o resultado foi expresso em UI SOD mg de proteína⁻¹. Para avaliação da atividade da enzima catalase (CAT) foi seguindo à metodologia de Nelson e Kiesow,⁽²³⁾ no fígado, rins e cérebro. As amostras foram medidas a uma absorbância de 240 nm e expressa em μmol H₂O₂ min⁻¹ mg proteína⁻¹. A atividade da glutathione-S-transferase (GST) foi determinada no fígado de acordo com Habig *et al.*⁽²⁴⁾ A absorbância usada foi de 340 nm e o resultado foi expresso em μmol GS-DNB min⁻¹ mg proteína⁻¹, sendo o coeficiente de extinção molar de 9.6 mM cm⁻¹.

O antioxidante não-enzimático, glutathione reduzida (GSH), foi dosado pelo método de Sedlack e Lindsay,⁽²⁵⁾ no fígado, rins e cérebro. As amostras foram medidas em uma absorbância de 412 nm e os resultados foram comparados a uma curva padrão de GSH e expressos em μmol GSH mg proteína⁻¹. Os níveis de ácido ascórbico (ASA) foram determinados de acordo com Roe,⁽²⁶⁾ no fígado e cérebro. Realizou-se a leitura em 520 nm e os valores foram comparados a uma curva padrão de ácido ascórbico. O resultado foi expresso em μmol ASA g⁻¹ tecido.

Marcador de estresse oxidativo e parâmetros bioquímicos do plasma

Para a determinação de proteínas carboniladas (carbonil) os ensaios foram realizados segundo Yan *et al.*⁽²⁷⁾ no fígado, rins e cérebro. A leitura foi realizada em 370 nm e a quantidade de proteínas carboniladas foi expressa em nmol de carbonil mg proteína⁻¹. O conteúdo proteico das análises, exceto para o ASA, foi determinado pelo método de Bradford⁽²⁸⁾. As dosagens das atividades da AST e ALT, assim como a quantificação de glicose e colesterol total do plasma foram realizadas com kits comerciais (Labtest, MG, Brasil).

Os dados foram representados por média ± desvio padrão (DP) e analisados por Anova de uma via seguida pelo *post hoc* teste de Tukey. Foi estabelecido um nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade de 5 % ($p < 0,05$).

Resultados

Ensaio *in vitro* de fenóis totais e potencial antioxidante (DPPH·)

Para os ensaios de potencial antioxidante a fração MeOH e a fração AcOEt apresentaram valores conforme descritos na tabela 1. Devido ao baixo potencial antioxidante apresentado pela fração AcOEt no teste de sequestro de DPPH·, conforme este teste preliminar (CE₅₀ > 250 μg mL⁻¹), a fração AcOEt foi descartada para as análises posteriores tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

Tabela 1- Potencial antioxidante (DPPH^{*}), porcentagem de atividade antioxidante (% AA) e fenóis totais do extrato da semente jatobá e os padrões Ácido Ascórbico e Rutina

Amostra	CE ₅₀ (µg mL ⁻¹)	% AA	Fenóis Totais (mg EAG g ⁻¹)
MeOH	72,08 ± 0,31	96,10	552,29 ± 5,77
AcOEt	> 250	Não determinado	Não determinado
Ácido ascórbico	36,22 ± 0,24	93,57	-----
Rutina	41,83 ± 0,25	96,52	-----

Análises do tecido hepático

A atividade enzimática da SOD, no tecido hepático, não apresentou alterações (Figura 1A). Porém na dosagem da enzima CAT observou-se uma diminuição desta no grupo PCM (PCM= 6,89 ± 1,08 vs Controle = 9,47 ± 1,31) e aumento da enzima no grupo PCM+MeOH (PCM+MeOH= 9,20 ± 1,73 vs PCM= 6,89 ± 1,08) (Figura 1B). Em adição, a enzima GST apresentou uma redução da sua atividade no grupo PCM (PCM = 0,85 ± 0,11 vs Controle = 1,31 ± 0,11) e retornou aos níveis do controle no grupo PCM+MeOH (PCM+MeOH = 1,14 ± 0,24 vs PCM= 0,85 ± 0,11), (Fig. 1C). Para os marcadores não enzimáticos GSH e ASA foi observado diminuição destes marcadores no grupo PCM e aumento destes no grupo PCM+MeOH (Fig.1 D e E). Para as proteínas carboniladas observou-se um aumento das mesmas em todos os grupos tratados (Fig. 1 F).

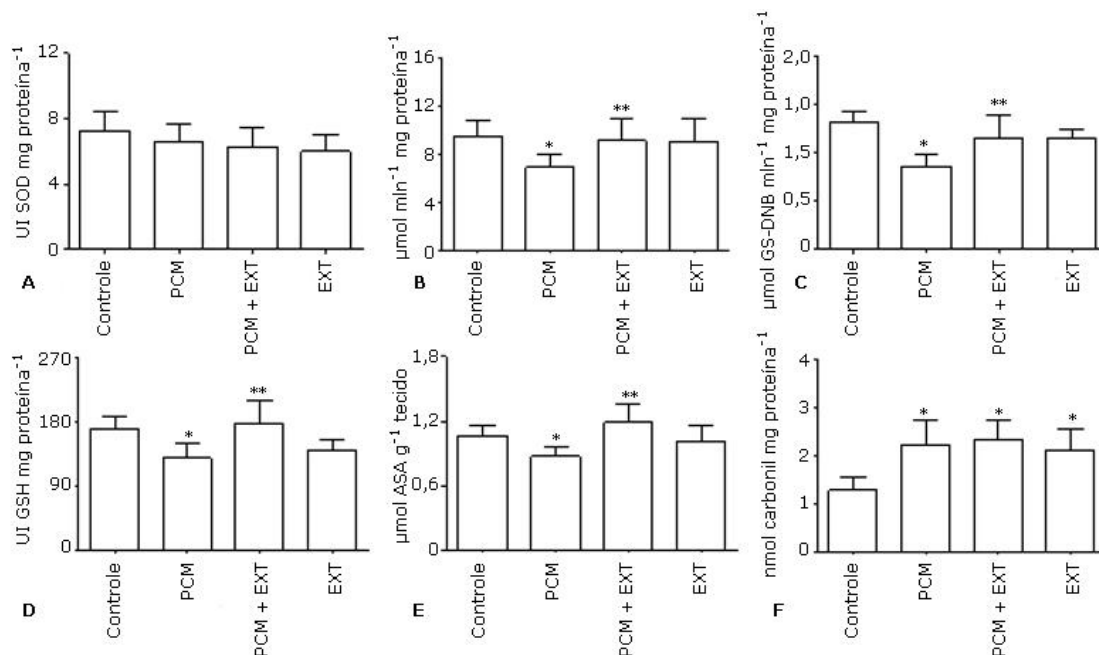


Fig. 1- Efeito da fração MeOH das sementes de jatobá sob o estresse oxidativo induzido por PCM em camundongos após 7 dias de tratamento no tecido hepático (n = 8 animais). A: SOD; B: CAT; C: GST; D: GSH; E: ASA; F: CARBONIL. *p < 0,05 em comparação com o grupo controle. ** p <0,05 em comparação com o grupo PCM. ANOVA de 1 via seguida

pelo teste de Tukey.

Análises do tecido renal

Nos homogeneizados de tecido renal a enzima CAT não sofreu alteração em nossos estudos (Fig. 2A). O marcador não enzimático GSH diminuiu seus índices no grupo PCM (PCM= 38,09 ± 5,75 vs Controle= 64,59 ± 12,05) e houve uma reversão desta alteração no grupo MeOH (PCM+MeOH= 62,49 ± 7,93 vs PCM= 38,09 ± 5,75) (Fig. 2B). As proteínas carboniladas mostraram-se aumentadas no grupo PCM (PCM= 5,74 ± 1,04 vs Controle= 3,07 ± 0,68) e houve diminuição desta aumento no grupo tratado com a fração (PCM+MeOH= 3,65 ± 0,71 vs PCM= 5,74 ± 1,04) (Fig. 2C).

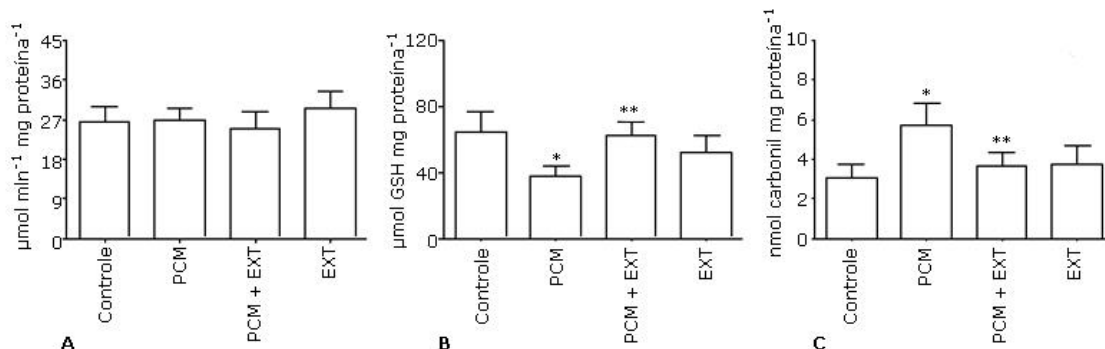


Fig. 2- Efeito da fração MeOH das sementes de jatobá, sob o estresse oxidativo induzido por PCM em camundongos após 7 dias de tratamento no tecido renal (n = 8 animais). A: CAT; B: GSH; C: CARBONIL. *p < 0,05 em comparação com o grupo controle. **p < 0,05 em comparação com o grupo PCM.

Análises do tecido cerebral

Nas análises do tecido cerebral não foram observadas diferenças significativas entre os grupos nas dosagens de CAT e GSH, assim como também não houve alteração significativa nos índices do marcador não enzimático ASA (Tabela 2). Já as dosagens de proteínas carboniladas tiveram uma elevação no grupo PCM e uma diminuição desta elevação no grupo MEOH quando este é comparado com PCM (Tabela 2).

Tabela 2- Efeito da fração MeOH de sementes de jatobá em amostras de cérebro, no modelo de estresse oxidativo induzido por PCM na CAT, GSH, ASA e CARBONIL.

GRUPOS	CAT ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}$ proteína ⁻¹)	GSH ($\mu\text{mol de GSH mg}$ proteína ⁻¹)	ASA ($\mu\text{mol ASA g}^{-1}$ tecido)	Carbonil (nmol carbonil mg proteína ⁻¹)
CONTROLE	5,44 ± 0,34	82,58 ± 8,25	0,52 ± 0,06	4,24 ± 0,38
PCM	6,04 ± 0,69	85,23 ± 13,92	0,54 ± 0,08	5,43 ± 0,89*
PCM+ MeOH	5,84 ± 0,78	87,65 ± 13,80	0,58 ± 0,08	3,89 ± 0,84**
MeOH	5,99 ± 0,71	84,92 ± 10,91	0,59 ± 0,05	3,77 ± 0,69

p < 0,05 em comparação com o grupo controle. **p < 0,05 em comparação com o grupo PCM. (n = 8 camundongos).

Análises no plasma

Nas análises do plasma foi observado um aumento das enzimas AST e ALT somente no grupo PCM (Tabela 3). A dosagem de glicose e colesterol não apresentaram alterações significativas nos grupos tratados (Tabela 3).

Tabela 3- Efeito da fração MeOH de sementes de jatobá em amostras de plasma sanguíneo, no modelo de estresse oxidativo induzido por PCM na AST, ALT, glicose e Colesterol

Grupos	AST (U L ⁻¹)	ALT (U L ⁻¹)	Glicose (mg dL ⁻¹)	Colesterol (mg dL ⁻¹)
Controle	119,00 ± 25,43	53,69 ± 10,54	235,20 ± 35,51	250,3 ± 22,85
PCM	168,70 ± 26,27*	71,09 ± 7,62*	239,50 ± 43,05	246,7 ± 37,94
PCM+MeOH	134,90 ± 32,48	68,62 ± 15,53	286,00 ± 54,87	298,8 ± 42,08
MeOH	83,81 ± 17,64	51,94 ± 10,95	257,70 ± 51,26	268,1 ± 42,02

*p <0,05 em comparação com o grupo controle. **p <0,05 em comparação com o grupo PCM. (n = 7-8 camundongos).

Discussão

O principal objetivo deste trabalho foi o de avaliar o potencial antioxidante e hepatoprotetor do extrato das sementes de jatobá após a administração do acetaminofeno (PCM). O PCM é um analgésico bastante seguro em doses terapêuticas em adultos, mas em doses elevadas pode produzir necrose hepática devido à saturação das vias metabólicas principais levando o PCM a sofrer oxidação gerando metabólitos tóxicos e depleção da GSH.⁽²⁹⁾ Este processo leva a formação de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio ocasionando o estresse oxidativo, que passam a serem combatidas pelas enzimas antioxidantes endógenas como a superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase e antioxidantes não enzimáticos. O estudo dos antioxidantes enzimáticos, não enzimáticos e a peroxidação lipídica são de grande importância na avaliação do estresse oxidativo, pois este é referido como um processo que conduz a oxidação de biomoléculas com consequente perda de sua função biológica e desequilíbrio homeostático, levando a dano oxidativo a células e tecidos.⁽³⁰⁾

O principal metabólito tóxico produzido pelo PCM no fígado é o NAPQI, inicialmente desintoxicado pela conjugação com a glutathione reduzida (GSH) e, em seguida, excretado pela urina na forma de ácido mercaptúrico. Quando a formação de NAPQI excede a taxa de desintoxicação por GSH, ela oxida as macromoléculas de tecido como os lipídios e grupo de proteínas. A exposição dos animais ao PCM levou a uma alteração das funções hepáticas e na capacidade antioxidante dos animais em estudo, sendo a diminuição dos níveis de GSH em homogeneizados de fígado no grupo PCM um indicativo de dano hepático oxidativo. Já os níveis elevados GSH no grupo que sofreu lesão e tratado com a fração, demonstrou um efeito antioxidante da semente da planta em estudo. Okokon *et al.*⁽³¹⁾ e Dash *et al.*⁽³²⁾, também observaram elevação dos níveis de GSH em animais tratados com extrato de plantas após lesão hepática com PCM.

O efeito antioxidante da fração MeOH do extrato das sementes de jatobá pode ser explicado através das análises *in vitro* que demonstraram que a planta em estudo contém grande quantidade de fenóis totais (552,29 ± 5,77 mg EAG g⁻¹). Estes resultados estão de acordo com Veggi *et al.*⁽³³⁾, que também encontrou altas atividade antioxidante e concentração de compostos fenólicos na casca do jatobá. As substâncias naturais agem de diversas maneiras na ação antioxidante sendo que os compostos fenólicos exercem principalmente ação na proteção da oxidação de lipídios e DNA.⁽³⁰⁾

Na intoxicação com PCM ocorrem alterações em proteínas decorrentes do estresse

oxidativo que é então responsável pela iniciação e progresso do dano no fígado. Em relação às proteínas carboniladas, observamos um aumento no grupo PCM e a fração não foi capaz de interferir nesta alteração. Embora a fração tenha sido eficiente na maioria das análises feitas no fígado, é provável que esta fração contenha algumas substâncias que podem estar causando oxidação de proteínas. Por isso, é necessária a realização de novos estudos para a confirmação dos metabólitos secundários ali presentes e assim poder ter uma explicação acerca deste efeito negativo.

As enzimas CAT e GST demonstraram diminuição da sua atividade após a administração do PCM. Esta mesma atividade foi restaurada a níveis do controle no grupo de animais que receberam a fração da semente de jatobá. Neste contexto, *Shanmugam et al.*⁽³⁴⁾ observaram restauração da atividade da CAT com a administração de extrato etanólico de *Caralluma umbellata* (200 mg kg⁻¹), após a administração de paracetamol (800 mg kg⁻¹, i.p) em ratos. Já *Ajiboye et al.*⁽³⁵⁾ e *Ajiboye*⁽³⁶⁾, observaram recuperação nas atividades da CAT e GST em ratos tratados com extrato de *Phyllanthus muellarianus* (100, 200 e 400 mg kg⁻¹ de extrato de folhas) e *Vitex doniana* (0.2 a 1 mg mL⁻¹ de extrato da fruta), respectivamente, frente ao dano induzido por paracetamol.

Com relação ao antioxidante não enzimático, ácido ascórbico, observamos diminuição dos seus índices no grupo PCM e aumento destes níveis no grupo tratado com a planta em estudo. *Wu et al.*⁽³⁷⁾ demonstraram que a vitamina C tem benefícios contra a lesão hepática induzida por cantharidina, possivelmente pela atenuação da resposta inflamatória e do estresse oxidativo. *Kiziltas et al.*⁽³⁸⁾ observou efeito hepatoprotetor no extrato das flores de *Ferulago angulata*, rico em vitamina C e fenóis.

A lesão hepática induzida pelo PCM está associada a um grande número de alterações bioquímicas atribuídas a liberação de componentes intracelulares na circulação sanguínea como as enzimas ALT e AST, em vista que sua quantificação é uma estimativa de dano hepatocelular, dado este que pode ser observado somente no grupo que sofreu intoxicação com o PCM. Nosso modelo experimental vai de encontro com outros estudos, como o de *Hamza et al.*⁽³⁹⁾ que também encontraram elevação das enzimas hepáticas em camundongos após intoxicação aguda com PCM.

A fração MeOH das sementes de jatobá, rica em compostos fenólicos, apresentou boa atividade antioxidante no tecido hepático. Já no tecido renal, a ação antioxidante da fração foi eficaz ao restabelecer os níveis alterados de GSH ocasionados pelo PCM, além de reverter o aumento de proteínas carboniladas. Isso pode ser decorrente da alta capacidade antioxidante (AA: 96,10%) da fração em estudo. Alguns estudos sugerem que os melhores resultados para atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical livre DPPH[•] concentram-se preferencialmente nos compostos polares. Estes dados corroboram com diversos trabalhos descritos na literatura que mostram a capacidade antioxidante de extratos da planta em estudo. Dentre eles podemos destacar o de *Oliveira et al.*⁽³⁰⁾ que verificaram que tanto a parte vegetal como o método extrativo influenciaram os níveis de compostos fenólicos de *Hymenaea martiana* Hayne.

O cérebro é muito suscetível ao dano oxidativo em função da alta utilização de oxigênio e elevada quantidade de lipídios não saturados e metais de transição como o ferro, além dos mecanismos deficientes em defesa antioxidante.⁽⁴¹⁾ Apesar do tratamento com a planta e o PCM não terem influenciado na maioria das análises, pode se constatar um aumento na carbonilação de proteínas e um

efeito benéfico, da fração, em restabelecer este tecido do dano. As proteínas, em conjunto com os lipídeos, também são alvo dos radicais livres, que foram gerados neste modelo experimental. Este resultado positivo pode ser devido a presença de compostos fenólicos presentes nesta fração obtida a partir do extrato da semente da planta. Porém, será importante, agora, investigar e identificar quais os compostos presentes e assim, entender os efeitos positivos e negativos que esta fração metanólica apresentou neste estudo.

Referências bibliográficas

1. Martins CHG, Souza FR, Fonseca C, Casemiro LA, Furtado NAJC, Ambrosio SR, *et al.* Determinação *in vitro* da Atividade Antibacteriana dos Extratos Brutos da Casca e Polpa Farinácea de *Hymenaea courbaril* L. Revista Investigação. 2010;10:37-43.
2. Silva S. Árvores da Amazônia- Pesquisa de campo, editor Fábio Ávila, texto de Noemi V. Martins. São Paulo: Empresa das Artes; 2006.
3. Jayaprakasam B, Lindo RLA, Dewitt DL, Nair MG. Terpenoids from stinking toe (*Hymenaea courbaril*) fruits with cyclooxygenase and lipid peroxidation inhibitory activities. Food Chem 2007; 05:485-90.
4. Simões K, Du J, Pessoni RAB, Lopes EMC, Vivanco JMV, Stermitz FR, *et al.* Ipomopsin and hymenain, two biscoumarins from seeds of *Hymenaea courbaril*. Phytochem Lett. 2009;2:59-62.
5. Calderón JC, Jaimes LC, Hernández EG, Villanova BG. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. Food Res Int. 2011;44:2047-53.
6. Silva MEGC, Guimarães ALG, Oliveira AP, Araújo CS, Filho JAS, Fontana AP, *et al.* HPLC-DAD analysis and antioxidant activity of *Hymenaea martiana* Hayne (Fabaceae). J Chem Pharm Res. 2012;4:1160-1166.
7. Martins CHG, Souza FR, Fonseca C, Casemiro LA, Furtado NAJC, Ambrosio SR, *et al.* Determinação *in vitro* da Atividade Antibacteriana dos Extratos Brutos da Casca e Polpa Farinácea de *Hymenaea courbaril* L. Revista Investigação. 2010;10:37-43.
8. Veggi PC, Cavalcanti RN, Meireles MAA. Modifier effects on Supercritical Fluid Extraction (SFE) of some Brazilian plants: Antioxidant activity and Economical evaluation. Procedia Food Sci 2011; 1:1717-24.
9. Pettit GRM, Eng Y, Stevenson CA, Doubek DL, Knight JC, Cichacz Z, *et al.* Isolation and Structure of Palstatin from the Amazon Tree *Hymenaea palustris*. J Nat Prod. 2003;66:259-62.
10. Orsi PR, Bonamim F, Severi JA, Santos RC, Vilegas W, Lima CAH, Stasi LC. *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne: A Brazilian medicinal plant with gastric and duodenal anti-ulcer and antidiarrheal effects in experimental rodent models. J Ethnopharmacol. 2012;143:81-90.
11. Cecílio AB, Faria DB, Oliveira PC, Caldas S, Oliveira DA, Sobral MEG, Duarte MGR, Moreira CPS, Silva CG, Almeida VL. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. J Ethnopharmacol. 2012;141:975-981.
12. Aguiar JC, Santiago GMP, Lavor PL, Veras HNH, Ferreira YS, Lima MAA, Arriaga AMC, Lemos TLG, Lima JQ, Jesus HCR, Alves PB, Braz RF. Chemical Constituents and Larvicidal Activity of *Hymenaea courbaril* Fruit Peel. Nat Prod Commun. 2010;5:1977-1980.

13. Santana ALBD, Maranhão CA, Santos JC, Cunha FM, Conceição GM, Bieber LW, *et al.* Antitermitic activity of extractives from three Brazilian hard woods against *Nasutiter mescorniger*. *Int Biodeterior Biodegradation*. 2010;64:7-12.
14. Barbosa MP, Martins MCM, Aida M, Lopes EMC, Young MCM, Bolzane VS, *et al.* Estudo Químico e Avaliação de Atividade Biológica de Folhas de *Hymenaea courbaril* var. *Stilbocarpa* (Hayne) Lee & Lang. 30^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química; 2007.
15. Hinson JA, Roberts DW, James LP. Mechanisms of acetaminophen-induced liver necrosis. *Handb Exp Pharmacol*. 2010;196:369-405.
16. Hodgman MJ, Garrard AR. A Review of Acetaminophen Poisoning. *Crit Care Clin*. 2012;28:499-516.
17. Kisaoglu A, Ozogul B, Turan MI, Yilmaz I, Demiryilmaz I, Atamanalp SS, *et al.* Damage induced by paracetamol compared with N-acetylcysteine. *J Chin Med Assn*. 2014;77:463-468.
18. Setty SR, Quereshi AA, Swamy AHMV, Patil T, Prakash T, Prabhu K, *et al.* Hepatoprotective activity of *Calotropis procera* flowers against paracetamol-induced hepatic injury in rats. *Fitoterapia*. 2007;78:451-4.
19. Olaleye MT, Rocha BTJ. Acetaminophen-induced liver damage in mice: Effects of some medicinal plants on the oxidative defense system. *Exp Toxicol Pathol*. 2008;59:319-327.
20. Sousa CMM, Silva HR, Vieira Jr GM, Ayres MCC, Costa CLS, Araújo DS, *et al.* Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quim Nova* 2007;30:351-5.
21. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*. 1999;299:152-78.
22. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the auto-oxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972;247:3170-5.
23. Nelson DP, Kiesow LA. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 °C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solution in the UV). *Anal Biochem*. 1972;49:474-478.
24. Habig WH, Pabst MJ, Jacoby WB. Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*. 1974;249:7130-9.
25. Sedlack J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem*. 1968;25:192-205.
26. Roe JH. Chemical determination of ascorbic, dehydroascorbic, and diketogulonic acids, In: *Methods of Biochemical Analysis*, Glick, D. New York: Interscience; 1954:115.
27. Yan LJ, Traber MG, Packer L. Spectrophotometric method for determination of carbonyls in oxidatively modified apolipoprotein B of human low-density lipoproteins. *Anal Biochem* 1995;228:349-351.
28. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54.
29. Lopes J, Matheus ME. Risco de hepatotoxicidade do paracetamol (acetaminofeno). *Rev Bras Farm*. 2012; 93:411-4.
30. Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas CG, de Paula SO, Minim VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Nutrição*. 2010;23:629-43.

31. Okokon JE, Simeon JO, Umoh EE. Hepatoprotective activity of the extract of *Homalium letestiui* stem against paracetamol-induced liver injury. *Avicenna J Phytomed.* 2017;7:27- 36.
32. Dash DK, Yieligar VC, Nayak SS, Ghosh T, Rajalingam D, Sengupta P, Maiti BC, Maity TK. Evaluation of hepatoprotective and antioxidant activity of *Ichnocarpus frutescens* (Linn.) R.Br. on paracetamol-induced hepatotoxicity in rats. *Trop J Pharm Res.* 2007;6:755-65.
33. Veggi PC, Santos DT, Fabiano-Tixier AS, Bourvellec CL, Meireles MAA, Chemat F. Ultrasound-assisted Extraction of Polyphenols from Jatoba (*Hymenaea courbaril* L.var stilbocarpa) Bark. *Food Public Health.* 2013;3:119-29.
34. Shanmugam G, Mahesh A, Rao DM, Subramaniam G. Hepatoprotective effect of *Caralluma umbellata* against acetaminophen induced oxidative stress and liver damage in rat. *J Pharm Res.* 2013;6:342-5.
35. Ajiboye TO, Ahmad FM, Yahaya AA, Ibitoye OB, Muritala HF, Sunmonu TO. Hepatoprotective potential of *Phyllanthus muellarianus* leaf extract: studies on hepatic, oxidative stress and inflammatory biomarkers. *Pharmacol Biol.* 2017;55:1662-70.
36. Ajiboye TO. Standardized extract of *Vitex doniana* Sweet stalls proteína oxidation, lipid peroxidation and DNA fragmentation in acetaminophen-induced hepatotoxicity. *J Ethnopharmacol.* 2015;22:273-282.
37. Wu W, Su M, Li T, Wu K, Wu X, Tang Z. Cantharidin-induced liver injuries in mice and the protective effect of vitamin C supplementation. *Int Immunopharmacol.* 2015;28:182-7.
38. Kiziltas H, Ekinb S, Bayramoglu M, Akbasb E, Otod G, Yildirime S, Ozgokcef F. Antioxidant properties of *Ferulago angulata* and its hepatoprotective effect against N-nitrosodimethylamine-induced oxidative stress in rats. *Pharm Biol.* 2017;55:888-97.
39. Hamza RZ, Al-Harbi MS. Amelioration of paracetamol hepatotoxicity and oxidative *Silymarin* and *Nigella sativa* extract supplements. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2015;5:521-31.
40. Oliveira FG, Lima-Saraiva SB, Oliveira AP, Rabelo SV, Rolim LA, Almeida J R. Influence of the Extractive Method on the Recovery of Phenolic Compounds in Different Parts of *Hymenaea martiana* Hayne. *Pharmacogn Res.* 2016;8:270-5.
41. Dornas WC, Oliveira TT, Rodrigues Das Dores RG, Santos AF, Nagem TJ. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas.* 2008;28:241-9.

Conflito de interesses

Los autores declaram no tener conflicto de intereses.

Contribuições de los autores

Débora Linsbinski Pereira: Realizo as análises bioquímicas e escrevi o manuscrito.

Ana Paula Simões da Cunha: Realizo as análises bioquímicas e escrevi o manuscrito

Hocelayne Paulino Fernandes: Preparou o extrato e as frações e realizou as análises fitoquímicas.

Naiéle Sartori Patias: Realizo as análises bioquímicas e escrevi o manuscrito

Adilson Paulo Sinhoro: Idealizou o estudo químico e acompanhou as análises fitoquímicas.

Valéria Dornelles Gindri Sinhori: Supervisionou o estudo farmacológico, realizou a análise dos dados e revisão do manuscrito.