

Efeito do extrato das folhas de *Carica Papaya* L. (mamoeiro) sobre o dano hepático induzido por paracetamolEfecto del extracto de las hojas de *Carica Papaya* L. (papaya) sobre el daño hepático inducido por paracetamolEffect of the leaf extract from *Carica Papaya* L. (papaya) on paracetamol-induced liver damageLauani Bárbara Luzia¹ <http://orcid.org/0000-0002-9721-4296>Valéria Dornelles Gindri Sinhori^{2*} <http://orcid.org/0000-0002-5070-0043>Adilson Paulo Sinhori² <http://orcid.org/0000-0002-4133-8994>Naiéle Sartori Patias² <http://orcid.org/0000-0001-7890-6230>¹Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências da Saúde, *Campus* de Sinop. Mato Grosso, Brasil.²Universidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Naturais, Humanas e Sociais, *Campus* de Sinop. Mato Grosso, Brasil.*Autor correspondente: valeriadgindri@gmail.com**RESUMO****Introdução:** O extrato das folhas de *Carica papaya* L. (mamão) é bem conhecido por ter propriedades antioxidantes. Suas folhas apresentam compostos fenólicos, alcaloides, vitaminas e minerais.**Objetivo:** Avaliar o efeito do extrato aquoso das folhas de mamoeiro (500 mg/kg) em camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por paracetamol.**Métodos:** As folhas foram selecionadas e secas e moídas, submetido à extração por infusão com água destilada a 70°C/ 1h. A solução foi filtrada e concentrada por rota-evaporação a 70°C. Camundongos *Swiss* machos receberam uma dose única de 250 mg/kg de paracetamol ou água, depois de 3h, os animais foram tratados durante 7 dias com extrato ou água. 24h após o tratamento foi retirado o sangue e os animais foram sacrificados para retirada do fígado e submetido às seguintes análises: carbonilação de proteínas, substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (lipoperoxidação), catalase, superóxido dismutase, glutathione-S-transferase, glutathione reduzida, ácido ascórbico e parâmetros bioquímicos do plasma (transaminases, fosfatase alcalina, glicose e colesterol).**Resultados:** O extrato reverteu o dano causado por paracetamol sobre a atividade da glutathione-S-transferase, carbonilação de proteínas e lipoperoxidação, além da restauração da atividade das transaminases. O extrato *per se* reduziu glutathione-S-transferase e ácido ascórbico, os níveis séricos de glicose, colesterol e alanina aminotransferase.**Conclusão:** O extrato aquoso das folhas do mamoeiro é capaz de exercer ações com efeitos antioxidantes, porém, é necessário o desenvolvimento de novas pesquisas a fim de descrever mais detalhadamente sobre seu provável potencial antioxidante.**Palavras chave:** Estresse oxidativo; hepatotoxicidade; acetaminofeno.**RESUMEN**

Introducción: El extracto de las hojas de *Carica papaya* L. (papaya) es bien conocido por tener propiedades antioxidantes. Sus hojas presentan compuestos fenólicos, alcaloides, vitaminas y minerales.

Objetivo: Evaluar el efecto del extracto acuoso de las hojas de papaya (500 mg/kg) en los ratones sometidos al estrés oxidativo inducido por paracetamol.

Métodos: Las hojas fueron seleccionadas, secadas, molidas y sometidas a extracción por infusión con agua destilada a 70 °C/1h. La solución se filtró y se concentró por evaporación rotacional a 70 °C. Los ratones suizos machos recibieron una dosis única de 250 mg/kg de paracetamol o de agua, después de 3h. Los animales fueron tratados durante 7 días con extracto o agua. 24 horas después del tratamiento, se extrajo sangre y los animales se sacrificaron para retirar el hígado y se sometieron a los siguientes análisis: carbonilación de proteínas, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (lipoperoxidación), catalasa, superóxido dismutasa, glutatión-S-transferasa, glutatión reducido, ácido ascórbico y parámetros bioquímicos de plasma (transaminasas, fosfatasa alcalina, glucosa y colesterol).

Resultados: El extracto revirtió el daño causado por el paracetamol a la actividad de la glutatión-S-transferasa, la carbonilación de proteínas y la lipoperoxidación, además de restaurar la actividad de las transaminasas. El extracto por sí redujo la glutatión-S-transferasa y el ácido ascórbico, los niveles séricos de glucosa, colesterol y alanina aminotransferasa.

Conclusión: El extracto acuoso de las hojas de papaya es capaz de ejercer importantes acciones con efectos antioxidantes, sin embargo, es necesario el desarrollo de nuevas investigaciones a fin de describir más detalladamente sobre su probable potencial antioxidante.

Palabras clave: estrés oxidativo; hepatotoxicidad; acetaminofeno.

ABSTRACT

Introduction: The leaf extract from *Carica papaya* L. (papaya) is well known for its antioxidant properties. The leaves of this plant contain phenolic compounds, alkaloids, vitamins and minerals.

Objective: Evaluate the effect of the aqueous extract from papaya leaves (500 mg/kg) on mice subjected to oxidative stress induced by paracetamol.

Methods: The leaves were selected, dried, ground and subjected to extraction by infusion with distilled water at 70°C/1h. The solution was filtered and concentrated by rotary evaporation at 70°C. The male Swiss mice received a single dose of 250 mg/kg paracetamol or water after 3 h. The animals were treated for 7 days with either extract or water. Twenty-four hours after treatment blood was extracted and the animals were sacrificed to remove the liver. The following analyses were conducted: protein carbonylation, thiobarbituric acid reactive substances (lipid peroxidation), catalase, superoxide dismutase, glutathione S-transferase, reduced glutathione, ascorbic acid and biochemical parameters of blood plasma (transaminases, alkaline phosphatase, glucose and cholesterol).

Results: The extract reversed the damage caused by paracetamol to glutathione S-transferase activity, protein carbonylation and lipid peroxidation, and restored transaminase activity. The extract as of itself reduced glutathione S-transferase and ascorbic acid, serum glucose levels, cholesterol and alanine aminotransferase.

Conclusion: The aqueous extract from papaya leaves displays relevant activity with antioxidant effects. However, further research should be conducted to describe its probable antioxidant potential in more detail.

Keywords: oxidative stress; hepatotoxicity; acetaminophen.

Recibido: 07/11/2017

Aceptado: 27/02/2020

Introdução

Segundo o Ministério da Saúde, o Brasil é o país de maior biodiversidade do planeta, com valioso conhecimento tradicional no uso de plantas medicinais, tendo, o potencial necessário para o desenvolvimento de pesquisas com resultados em tecnologias e terapêuticas apropriadas.⁽¹⁾

Desde a década de 70, a Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece o valor das práticas alternativas e complementares, inclusive o uso das plantas medicinais, como recursos terapêuticos.⁽²⁾

A hepatotoxicidade causada por fármacos é responsável por mais de 50% da insuficiência hepática aguda, incluindo a toxicidade por paracetamol (PCM).⁽³⁾ O PCM ou acetaminofeno é atualmente um dos analgésico-antipiréticos mais utilizados, principalmente em crianças.⁽⁴⁾ Quando administrado em doses terapêuticas, o PCM é bastante seguro, porém ocorre lesão grave em torno de 50% dos indivíduos após a absorção de 250 mg/kg.⁽⁵⁾ Esta hepatotoxicidade ocorre por conta da formação exagerada do metabólito tóxico gerado (n-acetil-p-benzoquinonaimina [NAPQI]), levando a um estresse oxidativo e subsequente lesão dos hepatócitos.⁽⁶⁾

O conhecimento etnobotânico e a vantagem dos fitoterápicos frequentemente guiam as pesquisas com produtos naturais.^(5,6,7) Estudos revelam que há maior probabilidade em encontrar atividade biológica em plantas usualmente utilizadas na medicina popular do que em plantas selecionadas ao acaso.⁽⁸⁾

O mamão (*Carica papaya* L.) é uma das frutas cultivadas e consumidas nas regiões tropicais do mundo devido suas propriedades nutritivas, digestivas, farmacêuticas e medicinais.⁽⁹⁾

As folhas do mamoeiro apresentam no látex uma protease (papaína), enzima com importante valor medicinal capaz de promover o debridamento químico de tecidos necrosados, facilitando o processo de cicatrização.⁽¹⁰⁾ Estudos demonstraram propriedades dos extratos destas folhas incluindo anti-cancer,⁽¹¹⁾ bactericida,⁽¹²⁾ hepatoprotetora,⁽¹³⁾ antiinflamatória,⁽¹⁴⁾ e antioxidante.⁽¹⁵⁾ As folhas do mamoeiro são ricas em flavonoides como, quercetina 3-(2^G-rhamnosilrutinosídeo), kaempferol 3-(2^G-rhamnosilrutinosídeo), quercetina 3-rutinosídeo, miricetina 3-rhamnosídeo, kaempferol 3-rutinosídeo, quercetina, e kaempferol.⁽¹⁶⁾

Percebe-se que o *C. papaya* possui funções farmacológicas comprovadas. Portanto, a presente investigação busca avaliar o efeito do uso popular do chá da folha do mamoeiro, obtido através do extrato aquoso desta, como um antioxidante, no modelo experimental de dano hepático induzido por paracetamol em camundongos.

Métodos

Coleta, identificação botânica e preparação do extrato

O material vegetal foi coletado na cidade de Sinop/ Mato Grosso- Brasil, sob as coordenadas geográficas S 11° 53' 53.016" W 55° 30' 18.828" no mês de novembro de 2014 e teve identificação botânica realizada pela Bióloga Márcia Cleia Vilela dos Santos. A exsicata da planta sob o número 6430 foi preparada e depositada Herbário Centro Norte Mato-Grossense (CNMT) da UFMT, *Campus* Universitário de Sinop-MT, Brasil.

As folhas foram coletadas, selecionadas e secadas em estufa com ventilação forçada, à temperatura média de 40 °C por sete dias. O material seco foi moído em moinho de facas obtendo-se 250g de pó que foi submetido à extração por infusão com água destilada (2,5 L), a 70 °C por 1 h. A solução foi filtrada e concentrada a 300 mL por evaporação rotativa a pressão reduzida em banho Maria a 70 °C. O concentrado foi congelado (-20 °C) por 24 h e liofilizado para a obtenção do extrato liofilizado (32,65g) que foi mantido congelado a -20 °C até sua utilização.

Animais e tratamento

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)-UFMT pelo número de protocolo 23108.707370/2014-82. Camundongos *Swiss* machos, peso médio (28 g), foram obtidos do Biotério Central da UFMT/Cuiabá. Durante todo o período os animais permaneceram sob controle de temperatura (22 ± 2 °C), umidade (55 ± 10%), luz (12 horas claro/escuro), exaustão, ração peletizada e água filtrada *ad libitum* e divididos em 4 grupos (n = 8). A dose de PCM (para o pré-tratamento, 250 mg/kg, administrado somente uma vez e 3h antes da primeira dose do extrato) foi selecionada de acordo com *Olaleye e Rocha*⁽¹⁷⁾ e a dose do extrato (500 mg/kg, para o tratamento) foi de acordo com uma pesquisa de *Halim*.⁽¹⁸⁾ Após o período de aclimação, os grupos foram submetidos aos seguintes tratamentos via gavagem: CONTROLE (controle negativo) - Água filtrada por 7 dias; PCM + CPL - PCM em dose única + extrato aquoso de CPL por 7 dias; CPL - Extrato aquoso de CPL por 7 dias; PCM (controle positivo) - PCM em dose única + água filtrada por 7 dias. No oitavo dia os animais foram anestesiados via intraperitoneal com Ketamina 50 mg/kg⁻¹, Xilaxina 2 mg/kg e Acepromazina 2 mg/kg. Foi realizada punção cardíaca para a coleta de sangue e posterior centrifugação para obtenção do plasma. Depois de sacrificados, os fígados foram retirados e congelados à -85 °C para posteriores análises.

Ensaio bioquímicos

A atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) foi mensurada de acordo com *Misra e Fridovich*.⁽¹⁹⁾ A absorbância foi observada em 480 nm usando o espectrofotômetro UV-VIS, expressa em UI SOD mg de proteína⁻¹. A atividade da CAT foi determinada segunda *Nelson e Kiesow*.⁽²⁰⁾ A alteração de absorbância do H₂O₂ em 60 segundos foi medida por espectrofotometria a 240 nm, expressa em µmol H₂O₂ consumido min⁻¹ mg proteína⁻¹. A atividade da glutathione-S-transferase (GST) foi determinada de acordo com *Habig y otros*.⁽²¹⁾ A formação de S-2,4-dinitrofenil glutathione foi monitorada através do aumento da absorbância em 340

nm contra o branco. O resultado foi expresso em $\mu\text{mol GS-DNB min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$.

A glutatona reduzida (GSH) foi dosada pelo método de *Sedlack e Lindsay*⁽²²⁾, sendo o seu conteúdo expresso em $\mu\text{mol GSH mg proteína}^{-1}$. A formação do ânion tiolato foi determinada a 412 nm e comparada com uma curva padrão de GSH. A concentração de ácido ascórbico (ASA) foi determinada de acordo com *Roe*⁽²³⁾, a leitura foi feita em 520 nm e comparados a uma curva padrão de ácido ascórbico e expressos em $\mu\text{mol ASA g}^{-1}$ tecido.

Para a determinação da peroxidação lipídica foi realizada a avaliação dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) conforme a técnica descrita por *Buege e Aust*⁽²⁴⁾, com algumas modificações. A quantidade de peroxidação lipídica foi lida em 535 nm e expressa em $\text{nmol MDA mg proteína}^{-1}$. A determinação de proteínas carboniladas foi realizada segundo *Yan et al.*⁽²⁵⁾ A quantidade foi determinada em 370 nm e expressa em $\text{nmol de carbonil mg proteína}^{-1}$. O conteúdo proteico para os testes descritos acima, exceto ASA, foi determinado pelo método de *Bradford*⁽²⁶⁾, usando albumina bovina como padrão para construção da curva de calibração e as amostras foram lidas em 595 nm. As dosagens das atividades das transaminases alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP), e a quantificação de glicose e colesterol total do plasma, foram realizados com kits comerciais.

Os dados foram representados por média \pm 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

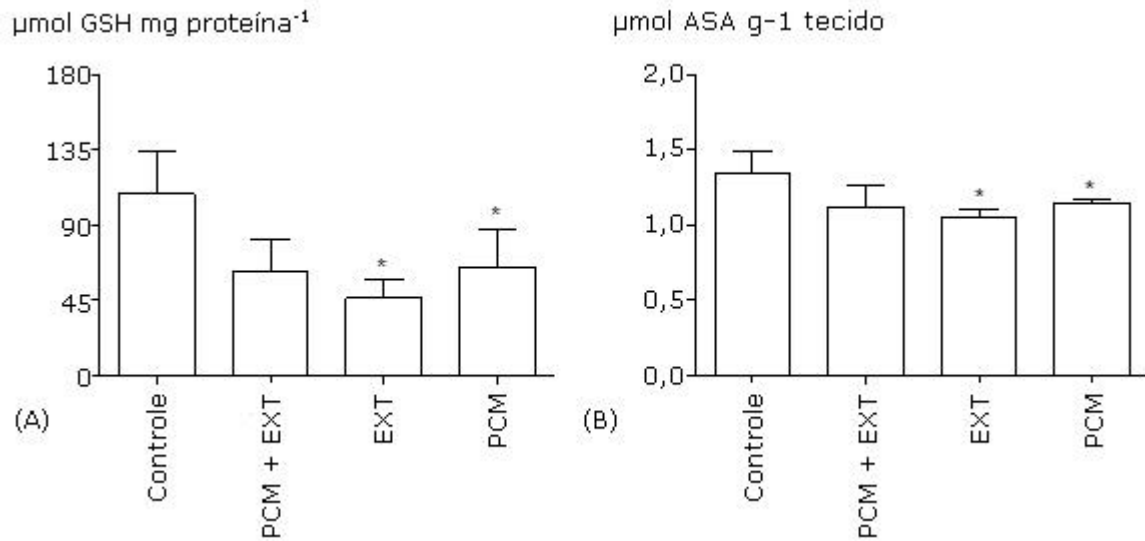
Os resultados observados para as atividades dos marcadores enzimáticos (Tabela 1), não foram constatadas alterações significativas na SOD em nenhum dos grupos investigados. A CAT apresentou uma diminuição expressiva no grupo PCM em relação ao grupo controle, assim como a GST. Porém, o extrato administrado após o PCM aumentou significativamente a atividade dessa enzima antioxidante, quando comparado ao grupo que recebeu apenas o paracetamol.

Tabela 1- Efeito do extrato aquoso de *Carica papaya* L. em amostras de fígado, no modelo de estresse oxidativo induzido por PCM nas atividades da SOD (superóxido dismutase), CAT (catalase) e GST (glutathiona-s-transferase)

Grupos	SOD	CAT	GST
CONTROLE	4,78 \pm 0,90	12,91 \pm 2,71	1,34 \pm 0,15
PCM+CPL	5,77 \pm 0,57	8,59 \pm 1,11	1,34 \pm 0,29**
CPL	3,95 \pm 0,43	10,64 \pm 1,76	1,28 \pm 0,29
PCM	5,48 \pm 0,48	8,10 \pm 2,47*	1,02 \pm 0,11*

* $P < 0,05$ comparado com o grupo controle e ** $P < 0,05$ em comparação com o grupo PCM; n = 8.

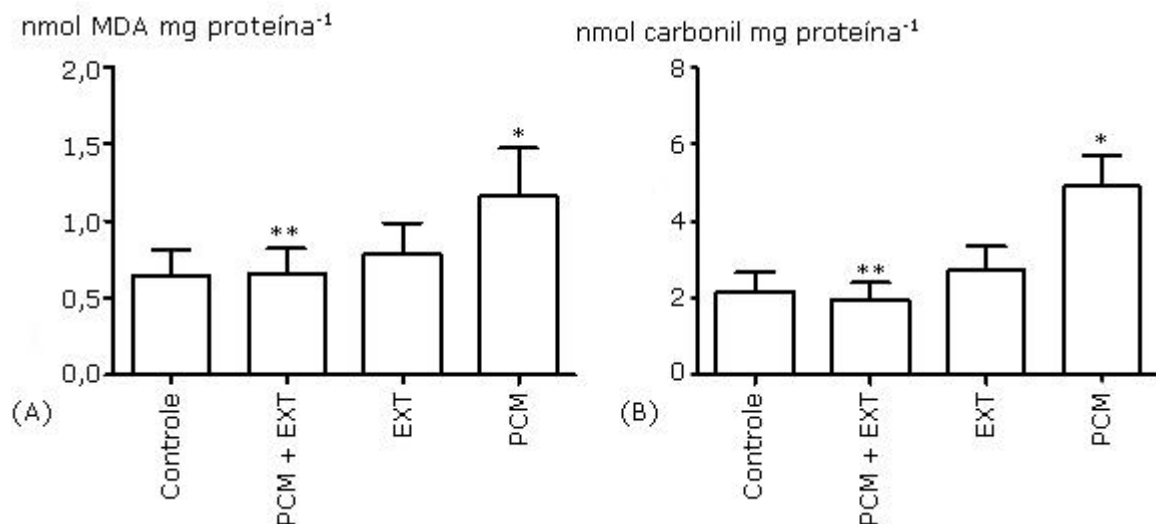
Nesta investigação, a GSH apresentou diminuição nos grupos PCM e CPL quando comparados ao controle (PCM = 64.89.6 \pm 22.58 vs Controle = 108.6 \pm 25.85 vs CPL = 45.80 \pm 11.22), conforme, Figura 1 A. Da mesma forma, a concentração de ASA apresentou uma depleção significativa tanto no grupo PCM (PCM = 1.14 \pm 0.05 vs Controle = 1.34 \pm 0.05), quanto no grupo tratado apenas com CPL (CPL = 1.05 \pm 0.14 vs Controle = 1.34 \pm 0.05), em comparação ao controle (Figura 1 B).



* $P < 0,05$ comparados com o grupo controle; $n = 8$.

Fig. 1- Avaliação dos antioxidantes não-enzimáticos GSH (A) e ASA (B) no tecido hepático de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM.

Os camundongos do grupo PCM (PCM=1.16±0.30 vs Controle=0.65±0.16) apresentaram um aumento significativo no que diz respeito à peroxidação lipídica, TBARS (representada pela quantidade de MDA mg proteína⁻¹ presente no tecido hepático), quando comparado ao controle. Outra diferença estatística pode ser percebida entre o grupo PCM e PCM + CPL (PCM=1.16±0.30 vs PCM+CPL=0.66±0.16), sendo que este último apresentou importante redução nos níveis de MDA, indicando que o extrato reverteu a lipoperoxidação causada pelo PCM (Figura 2 A). Houve aumento estatisticamente significativo na carbonilação de proteínas do grupo PCM (PCM=4.90±0.80 vs Controle=2.18±0.49) comparado ao grupo controle. Contudo, o grupo PCM tratado por sete dias com o CPL (PCM+CPL=1.97±0.43 vs PCM=4.90±0.80) apresentou uma redução deste dano proteico, quando comparado ao grupo PCM (Figura 2 B).



* $P < 0,05$ comparado com o grupo controle; ** $P < 0,05$ comparado com o grupo PCM; $n = 8$.

Fig. 2- Avaliação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (A) e Carbonilação de proteínas (B) no tecido hepático de camundongos submetidos ao estresse oxidativo induzido por PCM.

Na atividade das transaminases plasmáticas ALT e AST, os animais pré-tratados com PCM apresentaram uma elevação nos marcadores de dano hepático, em relação ao controle. Já os camundongos do grupo PCM+CPL, mostraram uma depleção estatisticamente considerável de ALT e AST, em comparação ao grupo PCM. Esta redução das transaminases se equiparou aos níveis do controle (Tabela 2). O grupo PCM apresentou um aumento significativo na atividade da ALP, quando comparado ao controle. Além disso, nós observamos que o extrato per se foi capaz de provocar uma redução importante de ALP plasmático no grupo CPL ($P < 0,001$), quando comparado ao grupo PCM (Tabela 2). O grupo tratado com o extrato aquoso de CPL durante 7 dias apresentou uma diminuição na concentração de glicose plasmática, bem como para o colesterol ($P < 0,05$), quando comparados ao grupo controle negativo (Tabela 2).

Tabela 2- Efeito do extrato aquoso de *Carica papaya* L. no plasma de camundongos submetidos ao modelo de estresse oxidativo induzido por PCM na ALT (alanina aminotransferase), AST (aspartato aminotransferase), ALP (fosfatase alcalina), glicose e colesterol

Grupos	ALT	AST	ALP	Glicose	Colesterol
Controle	49.05±9.68	78.87±8.86	109.3±15.24	209.32±9.63	58.5±8.65
PCM+CPL	48.32±5.66**	72.31±19.97**	163.9±27.29	213.00±7.66	55.51±8.15
CPL	44.18±10.10	64.91±13.74	71.13±10.61*	167.2±7.01*	46.59±6.45*
PCM	73.41±11.93*	103.6±17.74*	188.2±43.51*	201.52±5.29	49.72±9.65

* $P < 0,05$ em comparação com o grupo controle. ** $P < 0,05$ em comparação com o grupo PCM; $n = 8$.

Discussão

O fígado é um órgão vital, para manutenção metabólica e metabolização de xenobióticos e drogas. Se os mecanismos de proteção natural do fígado não forem eficientes pode resultar em dano hepático.⁽²⁷⁾ Como exemplo, há a geração de Espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e Espécies reativas de oxigênio (EROs), que durante uma hepatotoxicidade, atacam as membranas celulares e promovem a peroxidação lipídica e/ou danos às proteínas da membrana.⁽²⁸⁾ O TBARS, um marcador de dano lipídico, aumenta durante uma excessiva produção de radicais livres, numa condição de estresse oxidativo, o que justifica o aumento da peroxidação lipídica observada em camundongos intoxicados com PCM,⁽²⁹⁾ assim como a carbonilação de proteínas. Em nosso estudo, estes marcadores foram aumentados no grupo PCM e o extrato conseguiu reduzir o TBARS revertendo a lipoperoxidação, bem como a carbonilação de proteínas causados pelo paracetamol. Similar ao presente estudo, *Awodele et al.*⁽³⁰⁾ observaram uma redução nos níveis de TBARS no tecido hepático de ratos tratados com o extrato aquoso de folhas de CPL (100 mg/kg) e expostos ao paracetamol na dose de 600 mg/kg. De acordo com *Nugroho et al.*,⁽¹⁶⁾ as folhas do mamoeiro são ricas em compostos fenólicos, em especial flavonoides com potencial antioxidante, o que pode sugerir efeito benéfico do extrato sobre estes parâmetros avaliados.

O estresse oxidativo tem seus danos minimizados por um importante sistema de defesa enzimático, representado pelas enzimas SOD, CAT e GST.⁽³¹⁾ A atividade da enzima SOD, não sofreu alterações em nenhum dos grupos investigados. Apesar de não termos identificado alteração na SOD pelo extrato das folhas de CPL, estudos feitos com uma única dose de 400 mg/kg de extrato aquoso das folhas de CPL em ratos intoxicados com etanol promoveram um aumento na atividade da SOD hepática.⁽³²⁾ Tal resposta pode ser devido ao tempo de tratamento, uma vez que em nosso estudo os animais receberam o extrato por sete dias. Já a atividade da CAT apresentou uma diminuição expressiva no grupo PCM, o que vai de acordo com *Olaleye e Rocha*,⁽¹⁷⁾ que observaram redução na atividade da CAT em amostras de fígados de camundongos expostos ao PCM. O extrato não conseguiu alterar o efeito negativo causado pelo PCM, porém *Awodele et al.*,⁽³⁰⁾ identificaram que o extrato aquoso das folhas de CPL na dose de 100 mg/kg aumentou a atividade desta mesma enzima em ratos intoxicados com PCM e tratados por até 10h após a intoxicação. De acordo com *Azmi et al.*,⁽³³⁾ as folhas da CPL apresentam aproximadamente 15% de alcaloides e tendo em vista que usamos uma dose de 500 mg/kg, pode ser que tenha impactado de forma negativa sobre a CAT, além de considerarmos o tempo do tratamento que foram de sete dias.

O desequilíbrio no sistema oxidante/antioxidante é a principal consequência da hepatotoxicidade induzida por paracetamol.⁽³⁴⁾ O extrato em estudo demonstrou uma recuperação importante na atividade da enzima GST. Embora a overdose induzida por paracetamol tenha promovido a depleção da atividade desta enzima, potencializando o dano celular por afetar diretamente a eliminação de NAPQI,⁽³⁵⁾ o extrato aquoso das folhas de CPL foi eficaz na restauração dos níveis deste antioxidante enzimático. A alta reatividade do NAPQI com proteínas celulares provoca danos graves, essencialmente no fígado, levando a um estresse oxidativo mitocondrial e pode causar necrose.⁽²⁸⁾ A redução experimental de GSH hepática nos animais intoxicados com PCM está associada ao seu consumo durante a metabolização do metabólito NAPQI. Uma vez reduzida a GSH, a GST é também negativamente afetada, pois a GSH é uma importante coenzima que atua conjuntamente com a GST na detoxificação deste metabólito⁽³⁶⁾ e a falta destes acarreta em danos as proteínas de membrana. Experimentalmente, a redução da atividade hepática da GST e GSH (grupo PCM) é consistente com as afirmações acima. Por possuir maior similaridade com o uso popular, utilizamos em nosso estudo o extrato aquoso das folhas do mamoeiro. Porém, este reduziu os níveis de GSH e não foi eficaz em restaurar a depleção da GSH no grupo exposto ao PCM. Por outro lado, o extrato foi efetivo em aumentar a GST e reverter o dano proteico causado pela droga. É possível que haja o envolvimento dos compostos fenólicos neste contexto, embora não tenhamos feito um screening fitoquímico e tampouco identificado qualquer metabólito secundário neste extrato, estudos prévios feitos pelo nosso grupo de pesquisa identificaram a presença de quercetina 3-β-D-glicosídeo e rutina em folhas de CPL (dados não mostrados). Assim, estes flavonoides podem estar atuando como um antioxidante conforme os estudos de *Shanmugam et al.*⁽³⁷⁾

Outro antioxidante não-enzimático analisado foi o ASA, presente em vegetais e frutos incluindo o mamoeiro.⁽³⁸⁾ Neste estudo a concentração de ASA apresentou uma depleção significativa tanto no grupo PCM, quanto no grupo tratado apenas com o extrato. *Melo et al.*⁽³⁹⁾ investigaram o potencial antioxidante do extrato aquoso (polpa da fruta desidratada e água 2:1) de 15 frutas, classificando o

mamão entre as que mais apresentaram ácido ascórbico em sua composição e com potencial para sequestrar o radical estável 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) ou seja, com maiores propriedades antioxidantes. Possivelmente, o CPL não foi efetivo em promover a ativação dos antioxidantes não enzimáticos neste modelo experimental e também a forma de extração dos princípios ativos destas folhas não tenham propiciado a liberação desta vitamina.

Segundo *Olaleye e Rocha*,⁽¹⁷⁾ a administração de 250 mg/kg causa hepatotoxicidade resultando na liberação de enzimas hepáticas no sangue. Na avaliação dos níveis de transaminases plasmáticas ALT e AST, o grupo PCM apresentou elevação nos níveis dos referidos marcadores de dano hepático. Tais resultados corroboram para a afirmação de que a indução ao dano hepatocelular foi bem-sucedida na presente investigação e vai de encontro com os achados de *Ávila et al*,⁽³⁴⁾ que também observaram uma expressiva elevação sérica de ALT e AST na hepatotoxicidade induzida por PCM em camundongos com doses de 200 e 300 mg/kg. Contudo, os camundongos intoxicados com PCM e tratados com CPL, tiveram uma melhora na atividade destas enzimas em que a redução das transaminases se equiparou ao controle negativo. Além do aumento sérico transaminases hepáticas, o dano hepático induzido por fármacos pode ser hepatocelular ou colestatóico, o que acarretará em aumento de bilirrubina sérica, bem como o da enzima ALP. No grupo PCM houve um aumento nos níveis de ALP, comparado ao controle, porém o extrato não foi capaz de reverter a elevação dessa enzima. Do contrário, o extrato por si só foi capaz de provocar uma redução da atividade da ALP plasmática. Nos estudos feitos por *Awodele et al*⁽³⁰⁾ observaram que o extrato aquoso nas doses de 100 e 300 mg/kg de folhas de CPL promoveram uma redução nos níveis séricos de ALT, AST e ALP em animais expostos ao acetaminofeno 300 mg/kg.

Dados já mencionados na literatura,⁽⁴⁰⁾ o grupo tratado com o extrato aquoso das folhas de CPL durante 7 dias também apresentou uma diminuição significativa nos níveis de glicose plasmática. O extrato diminuiu a concentração de colesterol sérico de forma significativa em concordância com o estudo de *Olagunju et al*.⁽⁴¹⁾ Segundo *Nettina*,⁽⁴²⁾ o aumento sérico de colesterol e ALP podem indicar deterioração de hepatócitos ou distúrbios biliares, já que a bile é responsável tanto pela secreção de ALP produzida pelas células hepáticas quanto pela emulsificação de gorduras. Assim, ao correlacionar a ação exercida pelo extrato aquoso, com redução do colesterol e ALP plasmático, ambos somente no grupo CPL, é possível sugerir que este possa desempenhar uma provável ação anti-hiperlipêmica de influência profilática. Em adição, concluímos que o extrato aquoso de CPL é capaz de exercer importantes ações com efeitos antioxidantes e redução da glicemia. Porém, é necessário o desenvolvimento de mais estudos sobre esta parte da planta a fim de obtermos mais informações acerca do seu papel benéfico neste modelo animal.

Referências bibliográficas

1. Brasil. Ministério da Saúde. A Fitoterapia no SUS e o Programa de Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos. BVSMS. Brasília; 2006 [acceso: 23/05/2016]. Disponible en: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/fitoterapia_no_sus.pdf

2. Brandão MGL, Souza PJ, Graef CFF, Scalco V, Santos ACP, Salimena MF, *et al.* Biodiversidade, uso tradicional de plantas medicinais e produção de fitoterápicos em Minas Gerais. In: Anais do XIV Seminário sobre a Economia Mineira. Cedeplar, Universidade Federal de Minas Gerais; 2010. p. 1-10.
3. Alberto FS, Pires S, Figueiredo A, Deus JR. Insuficiência Hepática Aguda. *Acta Med Port.* 2009;22:809-20.
4. Sebben VC, Lugoch RW, Schlinker CS, Arbo MD, Vianna RL. Validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade para quantificação sérica do paracetamol. *J Bras Patol Med Lab.* 2010;46(2):143-48.
5. Silva P. *Farmacologia.* 7ª edição. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2006.
6. James LP, Letzig L, Simpson PM, Capparelli E, Roberts DW, Hinson JA, *et al.* Pharmacokinetics of acetaminophen-protein adducts in adults with acetaminophen overdose and acute liver failure. *Drug Metab Disp.* 2009;37(8):1779-84.
7. Turolla RSM, Nascimento SE. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. *Rev Bras Cienc Farm.* 2006 [acceso: 23/05/2016];42(2):289-06. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S151693322006000200015&lng=en&nrm=iso
8. Cechinel Filho V, Yunes RA. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais, conceitos sobre modificação para otimização da atividade. *Quím Nova.* 1998 [acceso: 23/05/2016];21(1):99-105, http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010040421998000100015&lng=en&nrm=iso
9. Santos DHP. *Produtos alternativos no controle de doenças fúngicas em folha e fruto de mamoeiro [dissertação].* Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Rio de Janeiro, 2013 [acceso: 23/05/2016]. Disponible en: http://www.uenf.br/Uenf/Downloads/PRODVEGETAL_3434_1372870415.pdf
10. Konno K, Hirayama C, Nakamura M, Tateishi K, Tamura Y, Hattori M, *et al.* Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex. *Plant J.* 2004;37:370-78.
11. Nguyen TT, Parat MO, Shaw PN, Hewavitharana AK, Hodson MP. Traditional aboriginal preparation alters the chemical profile of *Carica papaya* leaves and impacts on cytotoxicity towards human squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2016;11(2):e0147956.
12. Bridge M, Montero GD, Valladares MB, Katawera V, Nkwangu D, Noah JOO. Antibacterial effect of crude methanol *Carica papaya* L. (papaya) extract and amoxicillin combination. *Rev Cubana Plant Med.* 2015 [acceso: 23/05/2016];20(4). Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/246>
13. Tan SA, Ramos S, Martin MA, Mateos R, Harvey M, Ramanathan S, *et al.* Protective effects of papaya extracts on tert-butyl hydroperoxide mediated oxidative injury to human liver cells (an in-vitro study). *Free Rad Antiox.* 2012;2(3):10-19.
14. Adeolu AA, Eguonor V. Antinociceptive and anti-inflammatory studies of the aqueous leaf extract of *Carica papaya* in laboratory animals. *Asian J Exp Biol Sci.* 2013;4(1):89-96.
15. Okoko T, Ere D. Reduction of hydrogen peroxide-induced erythrocyte damage by *Carica papaya* leaf extract. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012;2(6):449-53.

16. Nugroho A, Heryani H, Choi JS, Park H. Identification and quantification of flavonoids in *Carica papaya* leaf and peroxy-nitrite-scavenging activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2017;7(3):208-13.
17. 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(5):319-27.
18. Halim SZ, Abdullah NR, Afzan A, Abdul Rashid BA, Jantan I, Ismail Z. Acute toxicity study of *Carica papaya* leaf extract in Sprague Dawley rats. *J Med Plant Res.* 2011;5(10):1867-72.
19. 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;247:3170-75.
20. 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;49:474-78.
21. Habig WH, Pabst MJ, Jacoby WB. Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 1974;249(22):7130-39.
22. Sedlack J, Lindsay RH. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem.* 1968;25(1):192-205.
23. Roe JH. Chemical determination of ascorbic, dehydroascorbic, and diketogulonic acids, In *Methods of Biochemical Analysis*, Glick, D. New York: Interscience; 1954(1):115.
24. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-10.
25. 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(2):349-351.
26. 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;72:248-254.
27. Ramachandra Setty S, Quereshi AA, Viswanath Swamy AH, Patil T, Prakash T, Prabhu K, *et al.* Hepatoprotective activity of *Calotropis procera* flowers against paracetamol-induced hepatic injury in rats. *Fitoterapia.* 2007;78(7):451-54.
28. Hodgman MJ, Garrard AR. A Review of Acetaminophen Poisoning. *Crit Care Clin.* 2012;28(4):499-516.
29. Fouad AA, Yacoubi MT, El-Bidawy MH. Therapeutic potential of hemin in acetaminophen nephrotoxicity in rats. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2009;27(2):277-82.

30. Awodele O, Yemitan O, Ise PU, Ikumawoyi VO. Modulatory potentials of aqueous leaf and unripe fruit extracts of *Carica papaya* Linn. (Caricaceae) against carbon tetrachloride and acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *J Intercult Ethnopharmacol.* 2016;5(1):27-31.
31. Gonçalves SE, Raskopf CJ, Minuzzo HR, Morgan-Martins MI, Marroni CA, Tunon MJ, et al. Efecto de la glutamina en el estrés oxidativo y la inflamación en un modelo de rata con insuficiencia hepática fulminante. *Nutr Hosp.* 2016;33(2):210-9.
32. Pandit A, Sachdeva T, Bafna P. Ameliorative effect of leaves of *Carica papaya* in ethanol and antitubercular drug induced hepatotoxicity. *Brit J Pharm Res.* 2013;3(4):648-61.
33. Azmi SMN, Jamal P, Amid A. Purification of Xanthine Oxidase Inhibitor from *Carica papaya* leaves using Reversed Phase Flash Column Chromatography (RPFCC) - High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC). *Aust J. Basic Appl Sci.* 2012;6(1):117-122.
34. Ávila DS, Palma AS, Colle D, Scolari R, Manarin F, Silveira AF, et al. Hepatoprotective activity of a vinylic telluride against acute exposure to acetaminophen. *Eur J Pharmacol.* 2011;661(1):92-101.
35. Letelier ME, López-Valladares M, Peredo-Silva L, Rojas-Sepúlveda D, Aracena P. Microsomal oxidative damage promoted by acetaminophen metabolism. *Toxicol In Vitro.* 2011;25(7):1310-1313.
36. Abdalla DSP, Faine LA. Radicais livres e antioxidantes. In: Oga S, Camargo MMA, Batistuzzo JA. O. (Org.). *Fundamentos de toxicologia.* 3ª ed. Atheneu: São Paulo. 2008;1(4):38-58.
37. Shanmugam S, Thangaraj P, Lima BS, Chandran R, Araújo AAS, Narain N, et al. Effects of luteolin and quercetin 3-B-D-glucoside identified from *Passiflora subpeltata* leaves against acetaminophen induced hepatotoxicity in rats. *Biomed Pharmacother.* 2016;83:1278-85.
38. Ayoola PB, Adeyeye A. Phytochemical and nutrient evaluation of *Carica papaya* (pawpaw) leaves. *Int J Res Rev Appl Sci.* 2010;5(3):325-28.
39. Melo EA, Maciel MIS, Lima VLAG, Nascimento RJ. Capacidade antioxidante de frutas. *Braz J Pharm Sci.* 2008;44(2). Disponible en: <http://www.journals.usp.br/rbcf/article/viewFile/44285/47906>
40. Juarez-Rojop IE, Tovilla-Zarate CA, Aguilar-Dominguez DE, Roa-De La Fuente LF, Lobato Garcia CE, Ble-Castillo JL, et al. Phytochemical screening and hypoglycemic activity of *Carica papaya* leaf in streptozotocin-induced diabetic rats. *Rev Bras Farmacogn.* 2014;24(3):341-7.
41. Olagunju JA, Adeneyeb AA, Fagbohunka BS, Bisugac NA, Ketiku AO, Beneod AS, et al. Nephroprotective activities of the aqueous seed extract of *Carica papaya* L. in carbon tetrachloride induced renal injured Wistar rats: a dose- and time-dependent study. *Biol Med.* 2009;1(1):11-19. Disponible en: http://www.biolmedonline.com/Articles/vol1_1_11-19.pdf
42. Nettina SM. *Brunner práctica de enfermagem.* Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan; 2012.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Lauani Bárbara Luzia: Preparou o extrato e realizou as análises bioquímicas e redigiu o manuscrito.

Naiéle Sartori Patias: Preparou o extrato e realizou as análises bioquímicas e redigiu o manuscrito.

Adilson Paulo Senhorin: Acompanhou a preparação do extrato e participou das análise dos dados e revisão do manuscrito

Valéria Dornelles Gindri Senhorin: Acompanhou a preparação do extrato e participou das análise dos dados e revisão do manuscrito a qual também supervisionou o estudo farmacológico.

Adilson Paulo Senhorin²

Naiéle Sartori Patias²