

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEPATOPROTETORA DO EXTRATO AQUOSO
DAS FOLHAS DE CHRYSOBALANUS ICACO**



<https://doi.org/10.56238/arev6n4-383>

Data de submissão: 23/11/2024

Data de Publicação: 23/12/2024

Maria Clara de Sousa Santana

Graduada em Medicina
Universidade de Pernambuco (UPE)
E-mail: clara.sousa@upe.br
Orcid: orcid.org/0000-0001-7149-5002

Daniel Medeiros Nunes

Graduando em Medicina
Universidade de Pernambuco (UPE)
E-mail: daniel.medeirosnunes@upe.br
Lattes: lattes.cnpq.br/1861837426303220

Marcio Michael Pontes

Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal
Universidade de Pernambuco (UPE)
E-mail: marcio.michaelp@upe.br
Lattes: lattes.cnpq.br/8131480125482359

Thaís Valdeci da Rocha Ferro

Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento Socioambiental
Universidade de Pernambuco (UPE)
E-mail: thaiferro@gmail.com
Lattes: lattes.cnpq.br/5190908383395843

Anísio Francisco Soares

Doutor em Bioquímica e Fisiologia
Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)
E-mail: anisio.soares@ufrpe.br
Lattes: lattes.cnpq.br/9044747136928972

Alissandra Trajano Nunes

Doutora em Biotecnologia
Universidade de Pernambuco (UPE)
E-mail: alissandra.nunes@upe.br
Lattes: lattes.cnpq.br/9481915719146847

Priscilla Barbosa Sales de Albuquerque

Doutora em Biologia Aplicada à Saúde
Universidade de Pernambuco (UPE)
E-mail: priscilla.barbosa@upe.br
Lattes: lattes.cnpq.br/2091307157054280

Natalie Emanuelle Ribeiro Rodrigues
Doutora em Inovação Terapêutica
Universidade de Pernambuco (UPE)
E-mail: natalie.rodrigues@upe.br
Lattes: lattes.cnpq.br/4443122163296249

RESUMO

A metabolização de substâncias no corpo humano é realizada principalmente pelo fígado, porém algumas substâncias quando em excesso, como o Paracetamol, pode levar à toxicidade hepática. A *Chrysobalanus icaco* L., planta com potentes metabólitos antioxidantes, mostra-se promissora no combate ao desbalanço antioxidant e ação de hepatoproteção. Este trabalho teve como objetivo avaliar a ação protetora do extrato aquoso das folhas da *C. icaco* (EAFCi) contra a hepatotoxicidade induzida pelo Paracetamol. Para isso, o material vegetal foi coletado e o extrato das folhas foi preparado através de decocção em água destilada (5:100 p/v). Para a avaliação *in vivo* da atividade hepatoprotetora, ratos Wistar foram divididos em 3 grupos de 5 animais cada os quais foram submetidos a tratamento com solução salina, silimarina e EAFCi na dose de 100 mg/kg (grupos I, II e III, respectivamente). No sétimo dia de tratamento foi administrado o Paracetamol e, após doze dias, foi realizada a eutanásia para a retirada do fígado. Foram então avaliados os níveis de glutationa reduzida, a peroxidação lipídica e o exame histopatológico. Com a metodologia utilizada, foi observada uma redução dos níveis de MDA e aumento nos níveis de GSH nos grupos que foram administrados a silimarina e a dose de 100mg/kg do EAFCi, quando comparado com o grupo controle. Ademais, na análise histológica do fígado foi observado que os animais tratados com silimarina e com a dose de 100mg/kg do EAFCi apresentaram morfologia normal do fígado, ao contrário do grupo controle negativo, o qual apresentou alterações significativas. Nesse sentido, conclui-se que a administração do EAFCi na dose de 100mg/kg em ratos Wistar foi capaz de inibir a hepatotoxicidade induzida pelo Paracetamol através da diminuição do MDA, aumento da GSH e preservação da morfologia hepática.

Palavras-chave: Bioprospecção. Estresse oxidativo. Hepatoproteção. Extratos vegetais.

1 INTRODUÇÃO

O fígado é o principal órgão humano com a função de metabolização de substâncias endógenas e xenobióticas (Thompson *et al.*, 2017); além disso, também está envolvido com a síntese de proteínas e a metabolização de ácidos graxos (Mohamad *et al.*, 2015). Distúrbios nesse processo de metabolização podem levar a hepatotoxicidade. Algumas substâncias podem causar graves danos aos hepatócitos como os antibióticos, anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) e consumo excessivo de Paracetamol, um dos analgésicos mais populares do mundo (Aslmarz *et al.*, 2019).

O alto consumo de Paracetamol (N-acetil-p-aminofenol; 4- hidroxiacetanilida; 4-acetamidofenol ou N-(4- hidroxifenil) acetamida) causa necrose hepática, inflamação e produção de espécies reativas de oxigênio (Mohamad *et al.*, 2015) mediante reação de biotransformação via citocromo P-450 que leva à formação da N-acetil-p-benzoquinona-imina (NAPQI), um metabólito reativo, que em altas concentrações não consegue ser conjugado com a glutatona reduzida (GSH) por causa do alto consumo. Níveis elevados de NAPQI e diminuídos de GSH levam a distúrbio mitocondrial, com a produção elevada de espécies reativas de oxigênio, além de outras alterações que levam à inflamação e necrose hepática, o que eleva os marcadores séricos de hepatotoxicidade como a alanina (AST) e aspartato aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP) e gama-glutamil transferase (γ -GT) (Freitag, 2014).

A alta concentração de espécies reativas de oxigênio levam a danos oxidativos com consequente peroxidação de lipídios, inibição de enzimas, oxidação de proteínas e danos ao DNA e ao RNA. Dessa forma, o seu equilíbrio é vital para o controle do estresse oxidativo, sendo os antioxidantes as principais fontes de proteção a esses danos. Dentre eles está a glutatona (GSH), a qual em níveis maiores indica uma maior resposta ao estresse oxidativo, enquanto seus níveis diminuídos indicam menor capacidade de destruir radicais livres e EROS (Pedrete, 2020).

Os fitoterápicos são considerados tratamentos alternativos eficazes e seguros para a tratar diversas doenças. A Silimarina, planta popularmente conhecida no Brasil como cardomariano, cardo-leiteiro, cardo-de-santa-maria, cardo-branco, cardo-de-nossa-senhora ou cardo-branco é um fitoterápico já bem comercializado no Brasil para o tratamento e/ou prevenção de doenças hepatobiliares, principalmente devido a seu efeito hepatoprotetor, sendo a droga-padrão utilizada em pesquisas. Essa sua propriedade é decorrente do complexo de flavolignanas, tendo a silibina como composto principal (Freitag, 2014). Nas últimas décadas, eles têm recebido crescente atenção como potenciais agentes terapêuticos para prevenir e tratar doenças hepáticas (Yoon *et al.*, 2016). Os flavonóides, um tipo de polifenol, são oxidados por radicais livres, gerando radicais mais estáveis e

com menor atividade. Eles ajudam na proteção do corpo contra danos mediados pelas espécies reativas de oxigênio (Aslmarz *et al.*, 2019; Mohamad *et al.*, 2015).

Muitas plantas são ricas em componentes antioxidantes como por exemplo a *Chrysobalanus icaco* Linnaeus, popularmente conhecida por guajerú, ajuru, baijirú, bajuru, guajuru, abajeru. Sua composição química inclui flavonóides derivados de miricetina e queracetina (Ribeiro *et al.*, 2020). O consumo do chá do *C. icaco* tem sido amplamente utilizado, na medicina popular, para o controle de várias doenças (Ferreira-Machado *et al.*, 2004). Estudos farmacológicos relataram que o extrato aquoso de folhas de *C. icaco* apresentam propriedades analgésica, anti-inflamatória e hipoglicemiante (White *et al.*, 2016). A sua propriedade anti-inflamatória é decorrente da inibição da liberação de mediadores pró-inflamatórios como óxido nítrico, histamina e prostaglandinas; através da inibição de enzimas pró-inflamatórias como a ciclooxigenase-2, óxido nítrico sintase e lipoxigenase. Além disso, algumas pesquisas vêm mostrando que a miricetina como principal fitoquímico das folhas da *C. icaco*, sendo importante para a sua propriedade antioxidante, além de outros flavonóides e terpenos (Onilude; Kazeem; Adu, 2021).

Devido ampla utilização medicinal da *C. icaco* e suas características fotoquímicas, o objetivo primordial deste trabalho é investigar a atividade protetora do extrato aquoso das folhas de *C. icaco* (EAFCi) contra a hepatotoxicidade induzida por paracetamol.

2 METODOLOGIA

2.1 MATERIAL BOTÂNICO

O material botânico utilizado foi coletado no município de Itamaracá, em Pernambuco, em outubro de 2020. As folhas foram secas em estufa a 40°C e trituradas. Posteriormente, 50g do pó foi submetido à extração por infusão em 1000 ml de água destilada a 100°C durante 15 min. Em seguida, o extrato foi filtrado, concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida e seco em liofilizador. O extrato foi armazenado a 4°C e solubilizado em solução salina nas concentrações desejadas minutos antes da realização dos experimentos.

2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os animais experimentais foram divididos em três grupos de cinco ratos cada. Cada grupo recebeu por via oral durante sete dias os seguintes tratamentos: no grupo I (controle negativo), os ratos receberam veículo (solução salina). No grupo II (controle positivo), os animais foram tratados com uma droga de referência, a silimarina (50 mg/kg). No grupo III os animais foram pré-tratados com o extrato aquoso de *C. icaco* na dose de 100 mg/kg. Após esse período, os animais foram submetidos a

jejum de 8 horas e em seguida receberam por via oral o Paracetamol na dose de 250 mg/kg. Após 12 horas, os animais foram anestesiados com ketamina e xilazina (8:2; v/v), tendo seus fígados coletados para determinação da atividade antioxidante e análise histológica.

2.3 ANÁLISE HISTOLÓGICA

Após laparotomia, o fígado foi removido, analisado macroscopicamente e pesado. Em seguida, foi fixado em formalina (formol a 10%), para processamento em técnica histopatológica de rotina. Posteriormente, os fragmentos tissulares foram seccionados em espessura de 5,0 μm e corados com hematoxilina-eosina para análise.

2.4 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os fígados foram homogeneizados em solução tampão de KCl 1,15% com EDTA 3 mM (5 mL/g de tecido) para avaliação das atividades antioxidantes através da quantificação da peroxidação lipídica. A mensuração dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), foi realizada mediante metodologia descrita por Ohkawa *et al.* (1979). A absorbância da fase orgânica foi mensurada a 535 nm e o resultado foi corrigido pela concentração de proteína do homogenato. Já a avaliação dos Níveis de Glutationa Reduzida (GSH) foi realizada mediante a mensuração de grupamentos sulfidrilas não proteicos foi realizada pelo método de Sedlak e Lindsay (1968), sendo os resultados corrigidos pela concentração de proteína do homogenato e expressos em μg GSH/mg de proteína. Em ambos os casos a dosagem de proteínas foi realizada pelo método de Folin (Lowry *et al.*, 1951), usando albumina de soro bovino (BSA) 0,1% como padrão.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores foram expressos como média \pm desvio padrão da média (D.P.M). As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Prism 8.0®. A homogeneidade das variâncias foi testada pelo método de Bartlett. Se a variância foi homogênea, os dados serão analisados por ANOVA, seguidos, quando necessário, pelo teste de Dunnett. Quando os dados não assumirem distribuição normal serão empregados os testes não-paramétricos de Kruskall-Wallis seguido pelo teste de Dunn. O nível de significância para rejeição da hipótese de nulidade foi fixado em 5% ($p<0,05$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

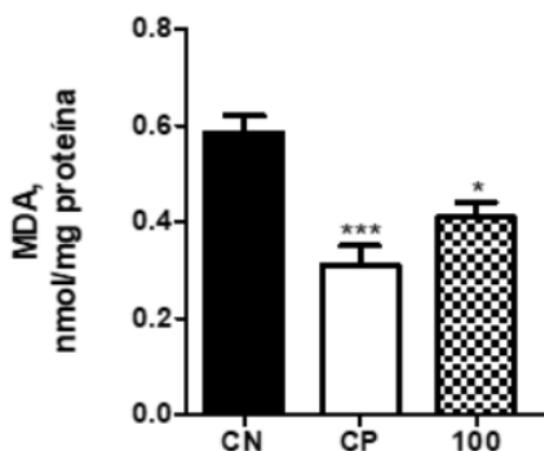
Doenças hepáticas são um problema de saúde pública mundial, desencadeadas principalmente por vírus, doenças metabólicas ou componentes químicos. Em nosso estudo, a atividade

hepatoprotetora do extrato aquoso das folhas de *Chrysobalanus icaco* foi verificada através do modelo de intoxicação hepática induzida por paracetamol em ratos Wistar, um modelo confiável para o estudo de fatores hepatoprotetores, que tem sido utilizado em diversas doses intraperitoneais e orais para indução de hepatotoxicidade (Yao *et al.*, 2015).

A peroxidação lipídica é um processo no qual radicais livres, como espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), atacam as ligações duplas entre carbonos nos lipídios. Esse mecanismo envolve a remoção de um átomo de hidrogênio de um carbono e a adição de uma molécula de oxigênio. O processo resulta em uma diversidade de produtos complexos, incluindo radicais lipídicos peroxil e hidroperóxidos como subprodutos iniciais, além de compostos secundários predominantes, como o malondialdeído (MDA) e o 4-hidroxinonenal (Tsikas *et al.*, 2017). O MDA tem sido amplamente utilizado em pesquisas biomédicas como um marcador de peroxidação lipídica devido à sua reação fácil com ácido tiobarbitúrico (TBA), sendo o ensaio TBARS (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico) amplamente aceito como um método eficaz para avaliar os níveis gerais de estresse oxidativo mediante a oxidação de lipídios em uma amostra biológica.

A respeito do potencial de inibição da formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) do extrato aquoso das folhas da *C. icaco* (EAFCi), os resultados mostram que o tratamento com silimarina e com o EAFCi na dose de 100mg/kg foi capaz de reduzir os níveis de malonaldeído (MDA) do fígado, quando comparados ao grupo controle negativo (Gráfico 1).

Gráfico 1: Mensuração dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nos grupos controle negativo (CN), controle positivo (CP) e nos grupos que receberam as doses de 100 mg/kg do EAFCi.



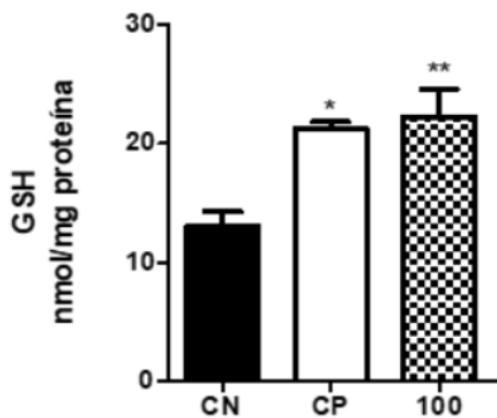
Fonte: O autor(2024). Legenda Os valores representam as médias \pm d.p.m. (n= 5/grupo). Estatisticamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido por Tukey, *p <0,05; **p<0,01; ***p<0,00).

A glutationa reduzida, também conhecida como GSH, é um componente endógeno do metabolismo celular, um tripeptídeo composto de glicina, cisteína e ácido glutâmico. É parte

integrante da biotransformação de substâncias xenobióticas e serve para proteger o corpo de agentes oxidantes. A conjugação da glutationa (facilitada por uma família de enzimas glutationa transferases) ajuda a contribuir para a desintoxicação ao ligar eletrófilos que poderiam se ligar a proteínas ou ácidos nucléicos, resultando em dano celular e mutações genéticas. Quanto maior a sua quantidade, mais protegido está o organismo (Pizzorno, 2014). O tratamento com o EAFCi aumentou o nível de GSH nos grupos tratados com a silimarina e com o EAFCi na dose de 100 mg/kg, quando comparado com o controle negativo. Com isso, podemos afirmar que o EAFCi possui uma atividade antioxidante na concentração testada neste estudo.

Estudo prévio desenvolvido por Cavalcanti e colaboradores (2023) avaliou a atividade antioxidante do extrato aquoso das folhas de *C. icaco* frente aos ensaios dos radicais difenilpicrilhidrazil (DPPH) e 2,2'-azinobis-(3-etylbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS). Foi verificado que a dose de 62,5 µg/mL do extrato foi capaz de superar o parâmetro IC₅₀ com 50,60 ± 0,26 % no ensaio do DPPH, bem como o ensaio o ABTS apresentou sequestro de 49,31 ± 3,45 % do radical na concentração de 500 µg/mL e 65,65 ± 6,04 % na concentração de 1000 µg/mL, evidenciando o bom potencial antioxidante do extrato.

Gráfico 2: Mensuração dos níveis de glutationa redutase (GSH) nos grupos controle negativo (CN), controle positivo (CP) e nos grupos que receberam a doses de 100 mg/kg do EAFCi.

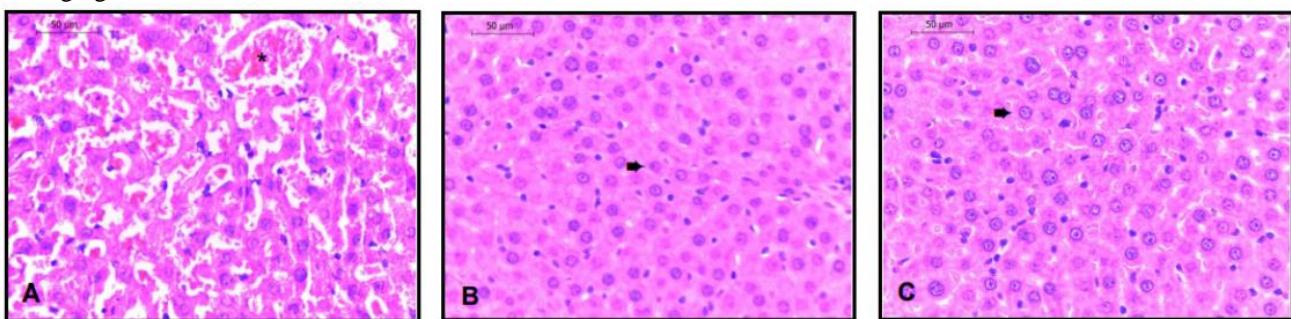


Fonte: O autor (2024). Legenda: Os valores representam as médias ± d.p.m. (n= 5/grupo). Estatisticamente diferente do grupo controle (ANOVA seguido por Tukey, *p <0,05; **p<0,01)

O dano hepático induzido pelo paracetamol já é bem estabelecido na literatura (Aslmarz *et al.*, 2019). Neste trabalho foi evidenciado que o uso de Paracetamol aumentou o teor oxidante com o aumento dos níveis de MDA e diminuiu os níveis da glutationa reduzida, um agente antioxidante, nos animais do grupo controle negativo. Percebe-se, no entanto, que o tratamento com o EAFCi na dose de 100 mg/kg foi capaz de prevenir os danos causados pelo paracetamol nos fígados dos animais, resultado que pode ser comprovado no exame histopatológico, no qual o fígado dos animais

do grupo tratado com silimarina (controle positivo) e o tratado com 100 mg/kg do EAFCi apresentaram hepatócitos de morfologia poligonal, com preservação da arquitetura tecidual. Por outro lado, na análise microscópica do tecido hepático dos animais do grupo controle negativo foi encontrado foco hemorrágico, presença de infiltrado inflamatório de polimorfonucleares, hepatócito com citoplasma vacuolado, macronucléolo e condensação de cromatina (Figura 1).

Figura 1: Fotomicrografia dos fígados dos grupos experimentais. (A) controle negativo, (B) controle positivo, (C) 100mg/kg.



Fonte: O autor (2024). Legenda: Asterisco – Veia com congestão; seta curta– hepatócitos poliédricos. H.E.

Em relação ao potencial de hepatoproteção, foi observado que existe uma associação com a presença de compostos bioativos nas plantas, como flavonoides, compostos fenólicos, ligninas e outros, que desempenham papel fundamental nos efeitos hepatoprotetores atribuídos às espécies vegetais. Sabe-se que os agentes hepatotóxicos atuam como precursores de moléculas altamente reativas, com capacidade de causar danos significativos às estruturas biológicas e que a inflamação resultante da lesão pode intensificar substancialmente o estresse oxidativo, o que torna os compostos bioativos, especialmente aqueles com atividade antioxidante, um foco importante em pesquisas científicas. Nesse contexto, as plantas ganham destaque devido à sua composição fitoquímica (Pereira *et al.*, 2016). Estudos anteriores demonstraram que frações ricas em compostos fenólicos e flavonoides, provenientes de diversas frutas ou ervas medicinais, além de extratos de proantocianidinas, possuem a capacidade de prevenir lesões hepáticas, necrose e apoptose em modelos de camundongos submetidos a agentes hepatotóxicos (Liu *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2018).

No presente estudo, a silimarina e o extrato de *Chrysobalanus icaco* demonstraram efeitos hepatoprotetores semelhantes. O mecanismo potencial de proteção hepática atribuído à silimarina está relacionado ao seu elevado teor de compostos fenólicos, conhecidos por sua contribuição significativa à atividade antioxidante (Dash, 2007). Os resultados obtidos para o extrato são consistentes com estudos prévios sobre a composição química das folhas de *C. icaco*, na qual os constituintes químicos principais analisados por UPLC-DAD-ESI-QTOF-MS/MS incluíam predominantemente terpenos, aglicona e flavonóides glicosilados (Ribeiro *et al.*, 2020).

Dessa forma, é plausível que o mecanismo de ação do efeito hepatoprotetor do extrato esteja associado à sua atividade antioxidante, decorrente de sua elevada concentração de flavonoides, reconhecidos por sua potente capacidade de eliminar radicais livres e reforçar o sistema de defesa antioxidante. Ademais, o conteúdo de esteroides, com propriedades anti-inflamatórias, pode também exercer um papel relevante na hepatoproteção conferida pelo extrato.

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que o extrato aquoso das folhas de *Chrysobalanus icaco* na dose de 100mg/kg tem propriedade hepatoprotetora contra o dano hepático induzido por Paracetamol, através do aumento dos níveis de GSH que tem caráter antioxidante, e da diminuição dos níveis de MDA o qual mostra que o EAFCi na dose de 100mg/kg foi capaz de reduzir a quantidade de substâncias resultantes da oxidação. Estes resultados corroboram com a análise histopatológica do fígado, a qual não apresentou alteração significativa da morfologia normal no grupo com a administração da dose de 100mg/kg do EAFCi. Esse caráter hepatoprotetor é conferido provavelmente pela presença de flavonóides no EAFCi.

A GRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio da UPE, entidade do Governo do Estado de Pernambuco voltada para a promoção do Ensino, da Pesquisa e da Extensão Universitária.

REFERÊNCIAS

- ASLMARZ, B. *et al.* Investigating the protective effect of *Thymbra spicata* extract on hepatotoxicity induced by acetaminophen in male rats. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, v. 9, n.2, p.189-194, 2019.
- CAVALCANTI, M. *et al.* Atividade biológica e perfil fitoquímico do extrato aquoso de *Chrysobalanus icaco*. *Peer Review*, v. 5, n. 19, p. 285–302, 2023.
- DASH, D. K. *et al.* Avaliação da atividade hepatoprotetora e antioxidante de *Ichnocarpus frutescens* (Linn.) R.Br. na hepatotoxicidade induzida por paracetamol em ratos, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. v. 6, n. 3, p. 755–765, 2007.
- FERREIRA-MACHADO, S. C. *et al.* Antidiabetic and genotoxic effects on Wistar rats treated with aqueous extract from *Chrysobalanus icaco* L. *Journal of Medicinal Plants Research*. v. 8, n. 1, p. 52-57, 2014.
- FREITAG, A. Efeito hepatoprotetor da silimarina (*Silybum marianum*) sobre a hepatotoxicidade induzida por paracetamol (APAP) em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Tese (Mestrado em Ciências da Saúde) - Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual de Maringá. Maringá, p.46. 2014.
- LOWRY O. H. *et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biologic Chemistry*, v. 193, n. 1, p. 265–75, 1951.
- LIU, W. *et al.* Grape seed proanthocyanidin extract protects against perfluorooctanoic acid-induced hepatotoxicity by attenuating inflammatory response, oxidative stress and apoptosis in mice. *Toxicology Research*, v. 5, n. 1, p. 224-234, 2016.
- MOHAMAD, N. E. *et al.* Antioxidant effects of pineapple vinegar in reversing of paracetamol-induced liver damage in mice. *Chinese Medicine*, v. 10, n. 3, 2015.
- OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.
- ONILUDE, H. A.; KAZEEM, M. I.; ADU, O. B. *Chrysobalanus icaco*: A review of its phytochemistry and pharmacology. *Journal Integrative Medicine*, v. 19,n. 1, p. 13-19, 2021.
- PEDRETE, T. A. *et al.* Glutathione and metallothionein as oxidative stress biomarkers in the medicinal plant *Chrysobalanus icaco* L. from different Brazilian regions. *Journal of Plant Biology and Crop Research*, v. 3, n. 1, p. 1-6, 2020.
- PEREIRA, C. *et al.* Extraction, identification, fractionation and isolation of phenolic compounds in plants with hepatoprotective effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 86, n. 4, p. 1068-1084, 2016.
- PIZZORNO, J. Glutathione!. *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*, v. 13, n. 1, p. 8, 2014.

RIBEIRO, N. E. *et al.* Acute and repeated dose 28-day oral toxicity of *Chrysobalanus icaco* L. leaf aqueous extract. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, v.113, p.104643, Mar. 2020.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical biochemistry*, v. 25, n. 1, p. 192-205, 1968.

SUN, Y. *et al.* Preventive effects of Chinese sumac fruits against acetaminophen-induced liver injury in mice via regulating oxidative stress, inflammation and apoptosis. *Journal of Functional Foods*, v. 87, 2021.

THOMPSON, M. *et al.* Hepatotoxicity: Treatment, causes and applications of medicinal plants as therapeutic agents. *The Journal of Phytopharmacology*, v.6, n.3, 186-193, 2017.

TSIKAS, D. *et al.* Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*, v. 524, p. 13–30, 2017.

WHITE, P. A. *et al.* Aqueous extract of *Chrysobalanus icaco* leaves, in lower doses, prevent fat gain in obese highfat fed mice. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 179, p. 92-100, 2016.

Yao H.-T. *et al.* Protective effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate against acetaminophen-induced liver injury in rats. *Biomedicine*. v. 5, p.16–21, 2015.

YOON, E. *et al.* Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: a Comprehensive Update. *Journal of Clinical and translational Hepatology*, v.4, n.2, p.131–142, 2016.

ZHOU, D. *et al.* Dietary functional flavonoids as natural hepatoprotective agents against acute liver injury from hop (*Humulus lupulus* L.). *Journal of Functional Foods*, v. 45, p. 471-479, 2018.