



Universidade Federal do Ceará
Centro de Ciências
Programa de Pós – Graduação em Bioquímica

CAROLINE NUNES DE ALMADA

**ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E HEPATOPROTETORA DA POLPA DE CAJU
(*Anacardium occidentale* L.) E ÁCIDOS ANACÁRDICOS EM RESPOSTA AO
ESTRESSE INDUZIDO POR PARACETAMOL**

FORTALEZA

2013

CAROLINE NUNES DE ALMADA

**ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E HEPATOPROTETORA DA POLPA DE CAJU
(*Anacardium occidentale* L.) E ÁCIDOS ANACÁRDICOS EM RESPOSTA AO
ESTRESSE INDUZIDO POR PARACETAMOL**

**Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Bioquímica da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial para obtenção do grau
de Mestre em Bioquímica.**

**Orientadora: Profa. Dra. Dirce
Fernandes de Melo**

**Co-orientadora: Profa. Dra. Erika
Freitas Mota**

FORTALEZA

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- A442a Almada, Caroline Nunes de.
Atividades antioxidante e hepatoprotetora da polpa de caju (*Anacardium occidentale* L.) e ácidos anacárdicos em resposta ao estresse induzido por paracetamol / Caroline Nunes de Almada. – 2013.
78 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2013.
Área de concentração: Bioquímica.
Orientação: Profa. Dra. Dirce Fernandes de Melo.
Coorientação: Prof. Dra. Erika Freitas Mota.
1. Antioxidantes. 2. Estresse oxidativo. 3. *Anacardium occidentale*. 4. Acetaminofen. I. Título.

CAROLINE NUNES DE ALMADA

**ATIVIDADES ANTIOXIDANTE E HEPATOPROTETORA DA POLPA DE CAJU
(*Anacardium occidentale* L.) E ÁCIDOS ANACÁRDICOS EM RESPOSTA AO
ESTRESSE INDUZIDO POR PARACETAMOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Bioquímica.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM ___/___/___

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. Dirce Fernandes de Melo (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará – UFC



Profa. Dra. Erika Freitas Mota (Co-Orientadora)

Universidade Federal do Ceará–UFC



Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan

Universidade Federal do Ceará – UFC



Dra. Neuza Felix Gomes

Universidade Federal do Ceará – UFC

**À minha família por todo apoio, carinho
e compreensão.**

AGRADECIMENTOS

A Deus por sua presença constante em minha vida, guiando-me e abençoando sempre.

À minha orientadora Profa. Dra. Dirce Fernandes de Melo, pela oportunidade, ensinamento, incentivo, carinho e compreensão. Por ter me acolhido tão bem em seu grupo de pesquisa ao longo desses 5 anos desde a iniciação científica até o mestrado em Bioquímica.

À minha co-orientadora Profa. Dra. Erika Freitas Mota, pelo apoio, interesse, ensinamento e cuidado na orientação desse trabalho.

À Profa. Dra. Maria Teresa Salles Trevisan, pelo fornecimento dos ácidos anacárdicos, por suas valiosas sugestões, por estar sempre disposta a ajudar e ter aceitado o convite para participar dessa banca.

À Profa. Dra. Ana Cláudia Marinho da Silva, pela incansável ajuda, apoio, força, incentivo e amizade.

À Profa. Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda, pelo fornecimento do caju, ensinamentos, sugestões e pela disponibilização do seu laboratório de Fisiologia dos Frutos no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC.

À Profa. Dra. Diana Célia Sousa Nunes Pinheiro, pelos ensinamentos e sugestões.

À Dra. Neuza Félix Gomes, pelos ensinamentos, sugestões, ajuda, apoio, carinho, amizade, e por ter aceitado o convite para participar dessa banca.

Aos meus amigos e colegas do laboratório de Bioenergética do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, por todo apoio, incentivo e amizade.

Aos meus amigos do grupo da Imunologia do laboratório de Bioenergética do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (Albert, Andresiane, Beatriz, Camila, Dalton, Deborah, Francisca, Geórgia, Joanna, Lívia, Michelle, Nayara e Samilly) por todo apoio, ajuda, incentivo, força, carinho, companheirismo, amizade e por todos os ótimos momentos passados juntos.

À toda minha família, pela torcida e carinho.

Aos meus pais Raimundo e Silvana, que são meu alicerce, pela força, carinho, amor e compreensão.

Às minhas irmãs Carine e Camila, por todo apoio, ajuda, incentivo, paciência, amor, companheirismo e amizade indispensáveis, estando sempre presentes, acompanhando minhas vitórias e torcendo por mim.

Às minha amigas Jessika e Bruna, pelo apoio, torcida, amizade e presença em todos os momentos.

A todos os meus amigos, pela torcida, força e amizade.

Aos professores, alunos e funcionários do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, que ajudaram direto ou indiretamente para a execução desse trabalho.

Aos colegas do laboratório de Produtos Naturais no Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC, pela ajuda e gentileza.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

A todos que de alguma forma contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse trabalho.

“Façamos da interrupção um caminho novo. Da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sonho uma ponte.”

Fernando Sabino.

RESUMO

Muitas substâncias vêm sendo testadas quanto à capacidade de proteger contra a toxicidade do paracetamol e aquelas que possuem propriedades antioxidantes têm sido as de maior interesse. O cajueiro é uma planta tropical conhecida pelas propriedades biológicas relacionadas ao seu potencial antioxidante. Esse trabalho tem como objetivo avaliar o efeito hepatoprotetor da polpa de caju e de ácidos anacárdicos em resposta ao estresse induzido por paracetamol. Para tanto, foram determinadas na polpa de caju os teores de vitamina C, antocianinas, flavonoides amarelos, carotenoides, polifenóis totais e atividade antioxidante total. Os ácidos anacárdicos foram extraídos do líquido da casca da castanha (LCC) de caju e a atividade antioxidante foi determinada pelos métodos de ABTS e DPPH. A avaliação do efeito hepatoprotetor consistiu na alimentação intragástrica (i.g.) de diferentes grupos de camundongos *Swiss* por 15 dias consecutivos com polpa de caju e ácidos anacárdicos. No 15º dia de tratamento, uma hora após a última dose, os animais receberam ou não dose aguda de paracetamol. Amostras de sangue foram coletadas para as dosagens das atividades das enzimas, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP) no soro. No fígado, foram avaliados a peroxidação lipídica, os grupos sulfidrilas não proteicos (NP-SH) e a atividade da superóxido dismutase (SOD). O perfil fitoquímico da polpa de caju revelou a presença de vitamina C ($115,62 \pm 2,058$ mg/100g), antocianinas ($3,40 \pm 0,6777$ mg/100g), flavonoides amarelos ($10,19 \pm 1,3046$ mg/100g), carotenoides ($0,71 \pm 0,0036$ mg/100g) e polifenóis ($626,5 \pm 3,536$ mg/100g). A atividade antioxidante total da polpa de caju foi de $14,495 \pm 0,2475$ μ M Trolox/g de amostra e $6.131,909 \pm 46,444$ g de amostra/g DPPH e dos ácidos anacárdicos foi de $2.113,72 \pm 141,8456$ μ M Trolox/g de amostra e $1.073,28 \pm 11,7217$ g de amostra/g DPPH. O pré-tratamento com polpa de caju e ácidos anacárdicos reduziu a atividade das enzimas ALT, AST e ALP em resposta ao estresse induzido por paracetamol. A polpa de caju e os ácidos anacárdicos reduziram a peroxidação lipídica, inibiram a depleção de NP-SH e a atividade da SOD. A ação hepatoprotetora dos ácidos anacárdicos foi mais eficiente que a polpa de caju.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*, ácidos anacárdicos, antioxidantes, estresse oxidativo, paracetamol.

ABSTRACT

Many substances have been tested for their ability to protect against paracetamol toxicity and those that possess antioxidant properties have been the ones of major interest. The cashew tree is a tropical plant known for its biological properties related to its antioxidant potential. This work aims to evaluate the hepatoprotective effect of cashew apple pulp and anacardic acids in response to stress induced by paracetamol. Thus, were determined in the cashew apple pulp the levels of vitamin C, anthocyanins, flavonoids yellow, carotenoids, total polyphenols and total antioxidant activity. The anacardic acids were extracted from cashew nut shell liquid (CNSL) and antioxidant activity was determined by ABTS and DPPH methods. The evaluation of hepatoprotective effect consisted on intragastric feeding (i.g.) of different groups of Swiss mice for 15 consecutive days with cashew apple pulp and anacardic acids. On 15th day of treatment, one hour after the last dose, animals received or not acute dose of paracetamol. Blood samples were collected for dosages of enzyme activities, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) in serum. In the liver, lipid peroxidation, non-protein sulfhydryl groups (NP-SH) and the activity of superoxide dismutase (SOD) were evaluated. The phytochemical profile of cashew apple pulp revealed the presence of vitamin C (115.62 ± 2.058 mg/100g), anthocyanins (3.40 ± 0.6777 mg/100 g), yellow flavonoids (10.19 ± 1.3046 mg/100 g), carotenoids (0.71 ± 0.0036 mg/100g) and polyphenols (626.5 ± 3.536 mg/100g). The total antioxidant activity of cashew apple pulp was 14.495 ± 0.2475 μ M Trolox/g sample and 6131.909 ± 46.444 g sample/g DPPH and of the anacardic acids was 2113.72 ± 141.8456 μ M Trolox/g sample and ± 1073.28 11.7217 g sample/g DPPH. Pretreatment with cashew apple pulp and anacardic acids reduced the activity of the enzymes ALT, AST and ALP in response to stress induced by paracetamol. The cashew apple pulp and anacardic acids reduced lipid peroxidation, inhibited the depletion of NP-SH and SOD activity. The hepatoprotective action of the anacardic acids was more efficient than the cashew apple pulp.

Keywords: *Anacardium occidentale*, anacardic acids, antioxidants, oxidative stress, paracetamol.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Clone de Cajueiro-Anão Precoce BRS 226	22
Figura 2	Pedúnculo de caju, castanha de caju e LCC	23
Figura 3	Estrutura química dos ácidos anacárdicos	24
Figura 4	Produção de espécies reativas de oxigênio	26
Figura 5	Efeito do paracetamol sobre a mucosa gástrica	47
Figura 6	Efeito do paracetamol sobre a mucosa gástrica de animais tratados com azeite de oliva	48
Figura 7	Efeito do paracetamol sobre a mucosa gástrica de animais tratados com ácidos anacárdicos	48
Figura 8	Efeito do paracetamol sobre a mucosa gástrica de animais tratados com polpa de caju	49
Figura 9	Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de alanina aminotransferase (ALT) no soro de camundongos submetidos a estresse por paracetamol	50
Figura 10	Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de aspartato aminotransferase (AST) no soro de camundongos submetidos a estresse por paracetamol	51
Figura 11	Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de fosfatase alcalina (ALP) no soro de camundongos submetidos a estresse por paracetamol	52
Figura 12	Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a peroxidação lipídica	53
Figura 13	Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre os níveis de grupos sulfidrila não proteicos (NP-SH) em homogenatos de fígado de camundongos submetidos a estresse por paracetamol	54
Figura 14	Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de superóxido dismutase (SOD) em homogenatos de fígado de camundongos	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Classificação dos polifenóis	29
Tabela 2	Atividade antioxidante total da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos	44
Tabela 3	Antioxidantes não enzimáticos em polpa de caju	45
Tabela 4	Peso dos animais nos dias 0 e 15 após diferentes tratamentos, mortalidade e peso relativo dos órgãos	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
AA _s	Ácidos anacárdicos
ABTS	2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
ANOVA	Análise de variância
AST	Aspartato aminotransferase
BSA	Albumina sérica bovina
CAT	Catalase
CE	Epicatequina
CEPA	Comitê de Ética em Pesquisa Animal
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
DHA	Ácido dehidroascórbico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
DTNB	Ácido ditionitrobenzoico
EGC	Epigalocatequina
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
FAO	Food and Agricultural Organization
FDA	Food and drug administration
GAE	Equivalentes de ácido gálico
GPx	Glutathione peroxidase

GSH	Glutationa reduzida
HCl	Ácido clorídrico
HO·	Radical hidroxil
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBRAF	Instituto Brasileiro de Frutas
i.g.	Intragástrica
IPECE	Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará
LCC	Líquido da casca da castanha
LDH	Lactato desidrogenase
MDA	Malondialdeído
NAPQI	N-acetil-p-benzoquinona imina
NBT	Nitro azul de tetrazólico
NP-SH	Grupos sulfidrilas não protéicos
O ₂ ⁻	Ânion superóxido
RO·	Radical Alcoxila
ROO·	Radical Peroxila
ROS	Espécies Reativas de Oxigênio
SOD	Superóxido dismutase
TFs	Flavonoides Totais

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
2.	OBJETIVOS.....	19
2.1	Objetivo geral.....	19
2.2	Objetivos específicos.....	19
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3.1	Produção e benefícios dos frutos.....	20
3.2	Caju (<i>Anacardium occidentale</i>).....	21
3.3	Ácidos anacárdicos.....	24
3.4	Estresse oxidativo.....	25
3.5	Defesa antioxidante.....	27
3.5.1	Vitamina C.....	27
3.5.2	Vitamina E.....	28
3.5.3	Carotenoides.....	28
3.5.4	Compostos fenólicos.....	28
3.5.5	Glutathione reduzida.....	30
3.6	Paracetamol.....	31
3.7	Marcadores bioquímicos.....	32
4.	MATERIAL.....	34
4.1	Material vegetal.....	34
4.2	Animais.....	34
4.3	Reagentes.....	34
5.	MÉTODO.....	35
5.1	Obtenção das amostras.....	35
5.1.1	Polpa de caju.....	35
5.1.2	Ácidos anacárdicos.....	35
5.2	Determinação do potencial antioxidante.....	36
5.2.1	Atividade antioxidante total da polpa de caju e ácidos anacárdicos.....	36
5.2.1.1	Preparo dos extratos.....	36
5.2.1.2	Ensaio ABTS.....	36
5.2.1.3	Ensaio DPPH.....	37
5.2.2	Antioxidantes não enzimáticos da polpa de caju.....	37

5.2.2.1	Determinação de vitamina C.....	37
5.2.2.2	Determinação de antocianinas.....	37
5.2.2.3	Determinação de flavonoides amarelos.....	38
5.2.2.4	Determinação de carotenoides totais.....	38
5.2.2.5	Determinação de polifenóis extraíveis totais.....	39
5.3	Estudo do efeito protetor da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos contra estresse induzido por paracetamol.....	39
5.3.1	Preparo do paracetamol.....	39
5.3.2	Grupos experimentais.....	40
5.3.3	Determinação da atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP) no soro de camundongos tratados com polpa de caju e ácidos anacárdicos.....	41
5.3.3.1	Coleta de soro.....	41
5.3.3.2	Determinação da atividade das enzimas ALT, AST e ALP.....	41
5.3.4	Determinação da peroxidação lipídica no fígado de camundongos tratados com polpa de caju e ácidos anacárdicos.....	41
5.3.5	Determinação dos grupos sulfidrilas não proteicos (NP-SH) e da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no fígado de camundongos tratados com polpa de caju e ácidos anacárdicos.....	42
5.3.5.1	Determinação dos grupos sulfidrilas não proteicos (NP-SH).....	42
5.3.5.2	Determinação da atividade da enzima SOD.....	42
5.3.5.2.1	Determinação de proteínas no fígado.....	43
5.4	Análise estatística.....	43
6.	RESULTADOS.....	44
6.1	Determinação da atividade antioxidante total.....	44
6.2	Determinação de antioxidantes não enzimáticos da polpa de caju.....	44
6.3	Avaliação do efeito protetor da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos em resposta ao estresse induzido por paracetamol.....	45

7.	DISCUSSÃO.....	56
8.	CONCLUSÕES.....	65
	REFERÊNCIAS.....	66

1. Introdução

Tornou-se evidente, nos últimos anos, a importância de uma alimentação balanceada na qualidade de vida e na saúde humana. Com isso, tem-se observado, mundialmente, um aumento no consumo de frutos e hortaliças, principalmente devido às crescentes vantagens que a ciência tem apontado em relação a esses alimentos, reconhecendo seu valor nutricional e terapêutico (LOPES, 2011). Os benefícios desses vegetais na dieta vêm sendo atribuídos aos compostos que possuem potencial antioxidante, tais como as vitaminas C e E, os carotenoides e os compostos fenólicos, especialmente os flavonoides (CERQUEIRA; MEDEIROS; AUGUSTO, 2007; KUSKOSKI; ASUERO, MORALES, 2006; LIMA *et al.*, 2005; RUFINO *et al.*, 2010).

O caju (*Anacardium occidentale* L.) foi escolhido para ser o objeto de estudo desse trabalho. Ele é nativo do Nordeste brasileiro, chegando a ser difundido em regiões da África e da Ásia. No Brasil, a produção está concentrada no Nordeste nos estados do Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte (SANTOS *et al.*, 2007). O pseudofruto apresenta alto valor nutritivo, sendo rico em vitamina C, além de conter carotenoides e compostos fenólicos como taninos e antocianinas (CAVALCANTE *et al.*, 2003). Fontes ricas em antioxidantes têm sido consideradas importantes para a manutenção e promoção da saúde, o caju se enquadra nessa perspectiva. Existem vários relatos na literatura sobre os benefícios dos compostos fenólicos entre os quais se destacam atividade antioxidante (PIETTA, 2000), anti-inflamatória (ACCOMANDO; PELLITTERI; CORSELLO, 2010), hepatoprotetora (JANBAZ; SAEED; GILANI, 2002) e prevenção de doenças cardiovasculares, neurodegenerativas e alguns tipos de câncer (HU, 2011).

Inúmeros compostos vêm sendo avaliados quanto à sua capacidade de proteger contra estresses oxidativos e efeitos hepatoprotetores, entretanto os que possuem propriedades antioxidantes têm sido os de maior interesse. Diante da riqueza do caju em antioxidantes, do interesse da cajucultura para a região do Ceará e o fato de não haver trabalhos na literatura que avaliassem a capacidade protetora da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos frente à hepatotoxicidade por paracetamol, esse tema apresentou-se como relevante para o desenvolvimento do trabalho.

Para demonstrar a atividade hepatoprotetora, o paracetamol foi usado como agente indutor de estresse oxidativo. Esse fármaco é comumente utilizado como analgésico e antitérmico, para alívio de febre, dores e incômodos, bem como foi por muito tempo recomendado no tratamento de sintomas associado à dengue. No entanto, vários são os trabalhos que relatam a toxicidade e o efeito danoso do uso indiscriminado desse fármaco sobre diversos órgãos, principalmente o fígado (DAY; GRAHAM; WHELTON, 2000; LIU; LU; PENG, 2011; YOUSEF *et al.*, 2010). A droga é metabolizada majoritariamente pelo fígado e sua toxicidade está relacionada com um de seus metabólitos, o N-acetil-p-benzoquinona imina (NAPQI) (VALE, 2003) que causa danos hepáticos associados com estresse oxidativo (OJO *et al.*, 2006), podendo até causar lesão hepática (DAY; GRAHAM; WHELTON, 2000).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antioxidante da polpa de caju (*Anacardium occidentale* L.) e dos ácidos anacárdicos do líquido da castanha (LCC) de caju e seus efeitos em resposta ao estresse induzido por paracetamol.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a capacidade antioxidante total da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos;
- Determinar a concentração de vitamina C, antocianinas, flavonoides amarelos, carotenoides totais e polifenóis totais na polpa de caju;
- Analisar o efeito da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a mucosa gástrica de camundongos submetidos ao estresse por paracetamol;
- Determinar o efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP) no soro de camundongos submetidos a estresse por paracetamol;
- Avaliar o efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a peroxidação lipídica no fígado de camundongos submetidos a estresse por paracetamol;
- Avaliar o efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre os grupos sulfidrilas não proteicos (NP-SH) no fígado de camundongos submetidos a estresse por paracetamol;
- Avaliar o efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no fígado de camundongos submetidos a estresse por paracetamol.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produção e benefícios dos frutos

O Brasil possui um grande número de espécies de frutos com potencial de interesse para agroindústria e nos últimos anos, vem produzindo, anualmente, cerca de 43 milhões de toneladas de frutos proporcionando ao país uma grande diversidade dos mesmos. Muitos frutos são exclusivos de determinadas regiões e dentre esses pode-se citar a laranja, a banana, o caju e a uva (IBRAF, 2011). De acordo com a Food and Agricultural Organization (2010), o Brasil é o sexto maior produtor de frutos frescos tropicais, sendo a primeira posição ocupada pela Índia.

Em 2010, o Brasil apresentou bom desempenho econômico comparado com o de 2009, com o valor total de produção de 20,6 bilhões correspondendo a um aumento superior a 16,9%. Em contrapartida, a área colhida totalizou 2.923,139 hectares, sinalizando um aumento apenas de 0,3% em relação à do ano anterior (IBGE, 2010). No ano de 2011, o Brasil produziu mais de 44 milhões de toneladas de frutos superando a produção de 2010, que foi cerca de 42,6 milhões (IBRAF, 2011).

No Estado do Ceará, a produção de frutos vem ganhando notoriedade a cada ano, passando a ser um setor importante para o agronegócio e para a economia do Estado. Em 2010 esta produção apresentou um crescimento de 0,66% em relação a 2009, alcançando um volume de 1.061.305 toneladas, representando um valor bruto da produção de R\$ 752,4 milhões. Esse bom desempenho faz com que o Ceará seja o maior exportador de frutos, ocupando, portanto, a primeira posição de exportações do nosso país. A pauta de exportação do Estado, em termos de fruticultura, está concentrada em castanha de caju (64,7%), melão (26,4%) e banana (4,0%). Para 2012, estima-se que ocorra um aumento na produção de frutas de 9,9% com ênfase para a castanha de caju, cujo crescimento esperado na produção é de 51,1% (IPECE, 2012).

O consumo de frutos no mercado interno e externo vem aumentando devido ao crescente reconhecimento do seu valor nutricional e terapêutico. Esse consumo não é mais uma questão de gosto ou preferência pessoal, mas faz-se necessário devido ao conteúdo de nutrientes que os frutos possuem (RUFINO *et al.*, 2010).

Segundo Hervert-Hernández e colaboradores (2011), a recomendação americana para uma alimentação saudável é a ingestão diária de 5 a 13 porções de frutos e vegetais em uma dieta 1200-3200 calorias.

Os frutos são considerados fontes ricas de micronutrientes essenciais, fibras e uma grande variedade de fitoquímicos tais como compostos fenólicos e carotenoides que individualmente ou combinados podem trazer benefícios para a saúde (HERVERT-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011; RUFINO *et al.*, 2010). Além disso, contribuem para a capacidade antioxidante total da dieta, a qual é derivada do poder antioxidante de vitaminas, polifenóis, carotenoides e outros componentes menores que podem atuar de forma sinérgica (LIU *et al.*, 2008; SAURA-CALIXTO; GOÑI, 2009).

O alto consumo de frutos tem sido associado com uma menor incidência de doenças degenerativas, incluindo câncer, doenças cardiovasculares, inflamação, artrite, declínio do sistema imune, disfunções cerebrais e catarata (LEONG; SHUI, 2002).

3.2 Caju (*Anacardium occidentale*)

O cajueiro (*Anacardium occidentale*), membro da família Anacardiaceae, é uma planta tropical nativa do Brasil sendo cultivada também na Índia e África. No Brasil, a cajucultura é uma das principais atividades agrônômicas do Nordeste brasileiro se concentrando principalmente nos Estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte (SANTOS *et al.*, 2007). Segundo Conab (2011), a cajucultura é de fundamental importância para a economia do Ceará gerando divisas e empregos no campo e na indústria.

De acordo com o porte, dois tipos de cajueiro são definidos o comum e o anão precoce. O cajueiro comum caracteriza-se pelo porte mais alto o que dificulta a execução dos tratamentos culturais e fitossanitários. O cajueiro anão precoce caracteriza-se pelo porte baixo, facilitando a colheita manual (FERNANDES *et al.*, 2009). Vários clones de cajueiro anão precoce são cultivados no Ceará como o CCP 76, CCP 09, CCP 1001, BRS 189 e BRS 226 (Figura 1) (ABREU, 2007; LOPES, 2011).



Figura 1: Clone de Cajueiro-Anão Precoce BRS 226. Fonte: PAIVA *et al.* (2002)

O cajueiro ocupa uma posição importante entre as árvores frutíferas tropicais devido ao aumento da comercialização de seus principais produtos que são a castanha, o líquido da casca da castanha (LCC) e o pedúnculo do caju (Figura 2) (SANTOS *et al.*, 2007). Os principais países produtores de castanha são Nigéria, Índia, Vietnã e Brasil. Com relação ao pedúnculo de caju, o Brasil é o principal produtor (FAO, 2010).

O fruto do cajueiro é a castanha com 3 cm de comprimento, semelhante a forma de um rim, apresentando coloração cinzenta, contendo mesocarpo com líquido viscoso de coloração castanha escura, denominado líquido da casca da castanha (COSTA *et al.*, 2009; MOTHÉ; AMARAL, 2004).

O LCC é um importante subproduto da produção de castanha constituindo uma fonte natural de compostos fenólicos. Entre seus constituintes têm-se os ácidos anacárdicos (AGOSTINI-COSTA *et al.*, 2000; CHAVES *et al.*, 2010). Esse subproduto é utilizado para diversos fins nas indústrias de vernizes, tintas, esmaltes e na indústria automotiva (MOTHÉ; AMARAL, 2004).

A castanha encontra-se ligada ao pseudofruto que é formado por um pedúnculo carnoso e suculento na forma de pêra sendo encontrada em três

colorações: amarelo, laranja e vermelho (ASSUNÇÃO; MERCADANTE, 2003). Segundo Agostini- Costa e colaboradores (2002), o Brasil é o pioneiro e líder no aproveitamento de pedúnculos de caju os quais podem ser consumidos *in natura* ou utilizados para a produção de outros produtos como suco integral, polpa congelada, néctar, cajuína, doces em calda, desidratados e cristalizados.

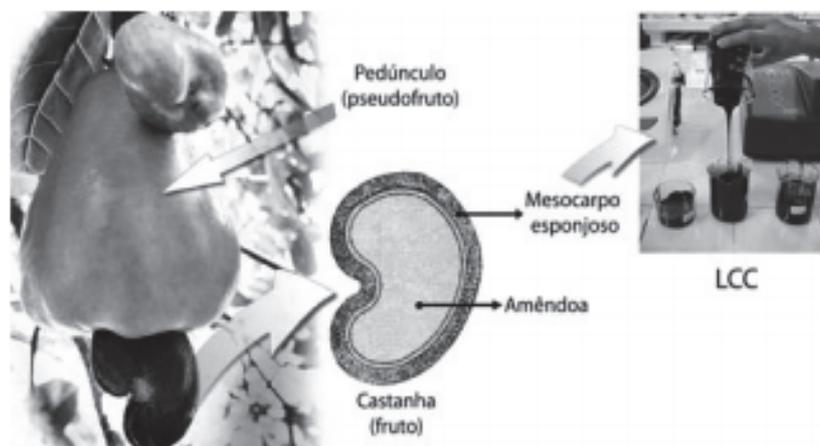


Figura 2: Pedúnculo de caju, castanha de caju e LCC. Fonte: MAZZETTO; LOMONACO; MELE (2009).

O pedúnculo de caju apresenta altos conteúdos de vitamina C e compostos fenólicos (QUEIROZ *et al.*, 2011). Nesse pseudofruto, vários compostos com capacidade antioxidante têm sido identificados, tais como carotenoides (ASSUNÇÃO; MERCADANTE, 2003), flavonoides (BRITO *et al.*, 2007), ácidos fenólicos (MICHODJEHOUN-MESTRES *et al.*, 2009a), taninos (MICHODJEHOUN-MESTRES *et al.*, 2009b) e ácidos anacárdicos (KUBO *et al.*, 2006; TREVISAN *et al.*, 2006).

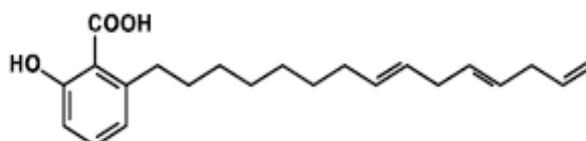
Anacardium occidentale tem sido alvo de diversas pesquisas científicas, havendo muitos relatos na literatura sobre suas atividades biológicas. As folhas de cajueiro possuem atividade antiulcerogênica (KONAN; BACCHIN, 2007) e antidiabéticas (KAMTCHOUING *et al.*, 1998). A casca do caule de *Anacardium occidentale* apresenta propriedade anti-inflamatória (OLAJIDE *et al.*, 2004; VANDERLINDE *et al.*, 2009) e antinoceptiva (VANDERLINDE *et al.*, 2009). Os pedúnculos de caju possuem atividade antioxidante (BROINIZI *et al.*, 2007; BROINIZI *et al.*, 2008; QUEIROZ *et al.*, 2011). O suco de caju apresenta atividade antimutagênica (MELO-CAVALCANTE *et al.*, 2008) e ação antitumoral (KUBO *et al.*,

1993). Os ácidos anacárdicos isolados de *Anacardium occidentale* também têm sido alvo de pesquisas nos últimos anos.

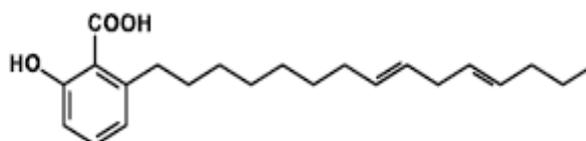
3.3 Ácidos anacárdicos

Os ácidos anacárdicos são compostos orgânicos formados por um ácido salicílico substituído no carbono 6 por uma cadeia alquila saturada ou insaturada (Figura 3). Esses compostos, juntamente com o cardol, cardanol e metilcardol, são lipídios fenólicos não isoprenoides, classe especial de fenóis contendo uma cadeia alquílica lateral (MORAIS, 2010). Esses lipídios fenólicos isoprenoides foram primeiros relatados em *Ginkgo biloba*, mas são encontrados em muitas espécies da família Anacardiaceae, especificamente em *Anacardium occidentale* (GELLERNAN; SCHLENK, 1968).

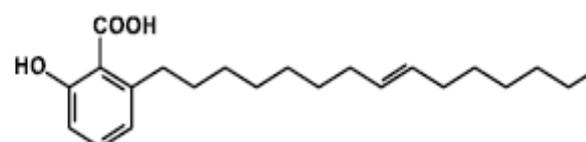
Ácido anacárdico 1



Ácido anacárdico 2



Ácido anacárdico 3



Ácido anacárdico 4

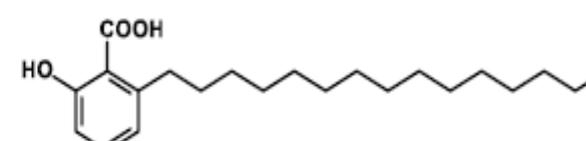


Figura 3: Estrutura química dos ácidos anacárdicos. Fonte: TREVISAN *et al.* (2006)

Os ácidos anacárdicos são acumulados principalmente na casca da castanha, sendo encontrados também na amêndoa e no pedúnculo do caju (SHOBHA; KRISHNASWAMY; RAVINDRANATH, 1992). De acordo com Agostini-Costa e colaboradores (2004), os pseudofrutos de caju são uma fonte promissora de compostos bioativos, devido a presença de ácidos anacárdicos. Isto poderá abrir caminhos para a utilização do pedúnculo de caju como alimento funcional favorecendo o desenvolvimento econômico e social, principalmente da região Nordeste do Brasil.

O conteúdo de ácidos anacárdicos encontrados no LCC, no pedúnculo e na castanha de caju foram determinados por Trevisan e colaboradores (2006). Neste estudo, o LCC apresentou a maior quantidade de ácidos anacárdicos, seguida pela castanha e pedúnculo de caju.

Nos últimos anos, várias atividades biológicas dos ácidos anacárdicos têm sido relatadas na literatura como: antioxidante (KUBO *et al.*, 2006; TREVISAN *et al.*, 2006); antibacteriana (KUBO; NIHE; TSUJIMOTO, 2003); gastroprotetora (MORAIS *et al.*, 2010); inibidoras de enzimas como lipoxigenases (HA; KUBO, 2005; SHOBHA; RAMADOSS; RAVINDRANATH, 1994), tirosinase (KUBO; KINST-HORI; YOKOKAWA, 1994), ciclooxigenase (PARAMASHIVAPPA *et al.*, 2003) histona acetiltransferase (SUNG *et al.*, 2008) e xantina oxidase (TREVISAN *et al.*, 2006). Essas atividades nos incentivaram a utilizar os ácidos anacárdicos na nossa pesquisa.

3.4 Estresse oxidativo

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a capacidade dos mecanismos de defesa antioxidante para desintoxicar os intermediários reativos (ROSENFELDT *et al.*, 2012).

As ROS são distribuídas em dois grupos, os radicalares: hidroxila (HO^{\bullet}), superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peroxila (ROO^{\bullet}) e alcóxila (RO^{\bullet}); e os não-radicalares: oxigênio, peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso (BARREIROS; DAVID, 2006). Essas espécies são produzidas constantemente como consequência de um metabolismo aeróbico normal. Entretanto, o excesso de ROS pode causar danos em muitos componentes celulares como lipídios, proteínas e ácidos nucleicos (BUFFENSTEIN *et al.*, 2008; ROSENFELDT *et al.*, 2012).

O estresse oxidativo devido ao excesso de ROS tem sido associado com patologias humanas e entre elas podem-se citar a diabetes (NAUDI *et al.*, 2012), envelhecimento celular (LIU; XU, 2011), doenças neurodegenerativas (ORSUCCI *et al.*, 2011) e doenças cardiovasculares (ZHANG *et al.*, 2011) (Figura 4).

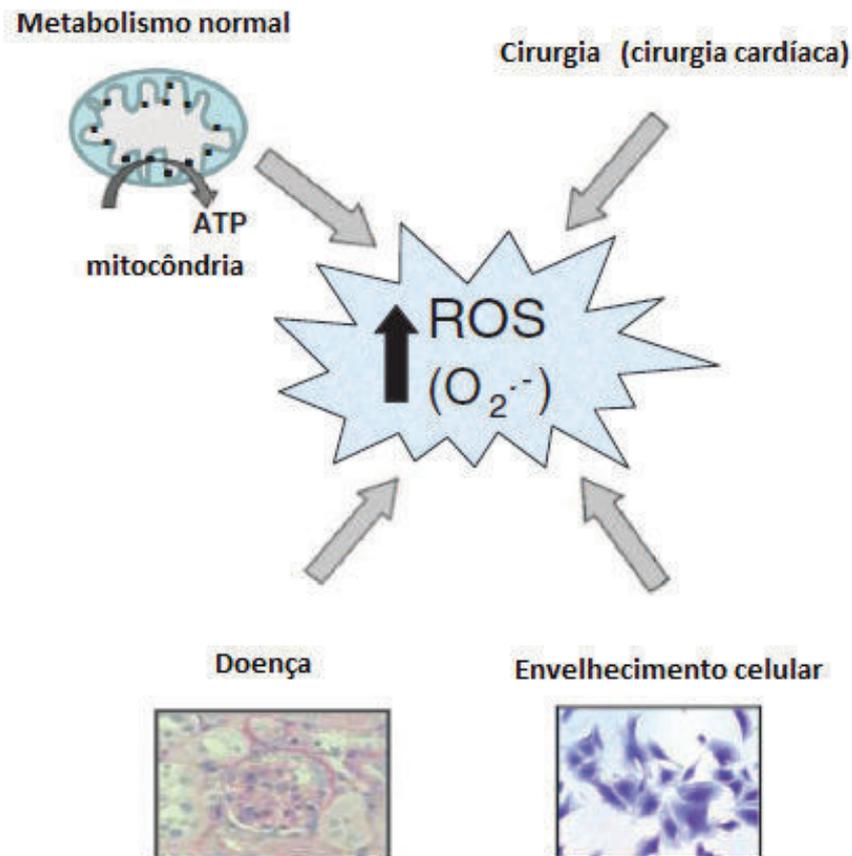


Figura 4: Produção de espécies reativas de oxigênio. Fonte: ROSENFELDT *et al.* (2012)

Estudos têm mostrado que altas doses de paracetamol têm provocado estresse oxidativo afetando o sistema de defesa antioxidante do organismo, causando peroxidação lipídica e danos no fígado (OLALEYE; ROCHA, 2008; OLALEYE *et al.*, 2010; SABIR *et al.*, 2012).

Compostos antioxidantes presentes em frutos e vegetais, como vitamina C, vitamina E, carotenoides e compostos fenólicos, têm sido conhecidos por reduzir o risco de doenças relacionadas ao estresse oxidativo devido ao sequestro de radicais livres (MISHRA *et al.*, 2010). Portanto, existe um grande interesse em investigar alimentos que contenham antioxidantes que venham promover saúde como agentes terapêuticos potenciais.

3.5 Defesa antioxidante

Os organismos vivos exibem mecanismos de defesa antioxidante próprio contra danos oxidativos. Esses são constituídos por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Os antioxidantes enzimáticos incluem as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutatona peroxidase (GPx) (HOPPS *et al.*, 2010).

As enzimas antioxidantes trabalham juntas protegendo contra danos oxidativos induzido por ROS (PILAI *et al.*, 2007). A SOD catalisa a conversão do ânion superóxido em oxigênio e peróxido de hidrogênio (LIU; XU, 2011). A catalase e a GPx convertem o peróxido de hidrogênio em água (LOBO *et al.*, 2010).

Os antioxidantes não enzimáticos incluem a vitamina C, vitamina E, carotenoides, compostos fenólicos e glutatona reduzida (GSH). Esses conferem proteção ao capturar e converter oxidantes para produtos finais não radicalares ou através da transferência de oxidantes para locais em que os seus efeitos nocivos serão menos prejudiciais (ERKAN; WANG; WANG, 2008; SIENS, 1997).

3.5.1 Vitamina C

A vitamina C ou ácido ascórbico (AA) é um antioxidante de baixo peso molecular, solúvel em água que interage diretamente com os radicais oxidantes por transferência rápida de elétrons protegendo a célula de ROS (PATRA; SWARUP; DWIVEDI, 2001). O ácido ascórbico (AA) é a forma biologicamente ativa da vitamina C, em condições fisiológicas é oxidado a ácido dehidroascórbico (DHA), o qual também possui atividade biológica (DEUTSCH, 2000).

O ascorbato é amplamente distribuído no reino vegetal, pois as plantas são capazes de sintetizá-lo. No entanto, os seres humanos não conseguem produzir AA sendo então necessária uma dieta rica em frutas e vegetais que são fontes de vitamina C (DU; CULLEN; BUETTNER, 2012; TRABER; STEVENS, 2011). Alguns frutos se destacam como fontes de AA, como acerola, camu-camu, jaboticaba e caju (RUFINO *et al.*, 2010).

Estudos têm mostrado que a vitamina C desempenha várias funções biológicas atuando como cofator de enzimas principalmente hidroxilases, antioxidante e na síntese de colágeno (TRABER; STEVENS, 2011).

3.5.2 Vitamina E

A vitamina E é um antioxidante lipossolúvel sendo um potente sequestrador de radical peroxil. Atua impedindo a reação em cadeia radicalar nas membranas e nas lipoproteínas plasmáticas (MASCIO; MURPHY; SIES, 2012; TRABER; ATKINSON, 2007). A vitamina E é composta por quatro tocoferóis e quatro tocotrienos, sendo o α -tocoferol o mais ativo (BARREIRO; DAVID, 2006). O α -tocoferol é um nutriente necessário para o ser humano atuando na prevenção de sintomas causados pela deficiência de vitamina E (TRABER; STEVENS, 2011).

3.5.3 Carotenoides

Os carotenoides são compostos poli-isoprenoides, apresentam sistema de ligação dupla conjugada que influenciam nas suas propriedades físicas, químicas e bioquímicas. Esses pigmentos naturais estão amplamente distribuídos na natureza, sendo sintetizados por plantas e microrganismos. Os seres humanos têm que obtê-los a partir da alimentação (QUIRÓS; COSTA, 2006).

Esses pigmentos naturais são responsáveis pela cor atrativa de muitos frutos e vegetais. Além de possuírem funções biológicas, tais como atividade de pró vitamina A, capacidade antioxidante e reforço do sistema imunológico (FERNÁNDEZ-GARCÍA *et al.*, 2012).

3.5.4 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos ou polifenóis (contendo 2 ou mais grupos fenóis) são metabólitos de plantas. Constituem um grande grupo de fitoquímicos com mais de 8.000 compostos identificados. Eles são classificados em flavonoides (antocianinas, flavonóis, flavanóis, flavonas, isoflavonoides e flavanonas) e não-flavonoides (ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos) (Tabela 1) (EBRAHIMI; SCHLUESENER, 2012).

Tabela 1: Classificação dos polifenóis

Polifenóis	Flavonoides	Antocianinas		Aurantidinina, Cianidina, Delfinidina, Europinidina, Luteolinidina, etc.	
		Flavonois		Quercetina, Miricetina, Kaempferol, etc.	
		Flavonas		Apigenina, Luteolina, Tangeritina, etc.	
		Flavanonas		Hesperetina, Hesperidina, etc.	
		Isoflavonoides	Isoflavonas	Genisteína, Daidzeína,	
			Isoflavanas	Equol, etc.	
		Flavanois	Monômeros	Catequina, Epicatequina, Epigallocatequina etc.	
			Oligoméricos e poliméricos	Taninos condensados, Proantocianidinas, etc.	
		Não- Flavonoides	Ácidos Fenólicos	Derivados de ácido cinâmico	Ácido caféico, Ácido Clorogênico, Ácido Sinápico, etc.
				Derivados de ácido benzóico	Ácido gálico, Ácido Protocatéquico, Ácido Vanílico, etc.
		Lignanas		Pinoresinol, Esteganacina, etc.	
		Estilbenos		Análogos de resveratrol, etc.	

Fonte: EBRAHIMI; SCHLUESENER (2012) com modificações.

Os polifenóis ocorrem em alimentos de origem vegetal e são encontrados em cereais, frutas, vegetais e bebidas como chá, café, vinho e cerveja (HERVERT-HERNÁNDEZ *et al.*, 2011; QUIÑONES; MIGUEL; ALEIXANDRE, 2012). Eles são os antioxidantes mais abundantes na dieta, sua ingestão é dez vezes maior que a de

vitamina C e vinte vezes maior que a de vitamina E ou carotenoides (RICE-EVANS; MILLER, 1996).

Os compostos fenólicos têm potente ação antioxidante atuando no sequestro de espécies reativas de oxigênio, na quelação de metais e como moduladores de enzimas. Possuem efeito protetor contra doenças degenerativas relacionadas ao envelhecimento e o seu alto consumo tem sido associado com a diminuição dos riscos de câncer, doenças cardiovasculares e desordens neurodegenerativas (PETTI; SCULLY, 2009; PIETTA *et al.*, 1998).

Estudos têm relatado ainda que os polifenóis possuem ação antimutagênica (HEO *et al.*, 1992), anti-inflamatória (MIDDLETON; KANDASWAMI, 1992), antimicrobiana (CUSHNIE; LAMB, 2005) e hepatoprotetora. Segundo Yousef e colaboradores (2010), o tratamento com quercetina, composto fenólico, restaurou as funções do fígado e inibiu injúrias oxidativas provocadas pelo paracetamol.

3.5.5 Glutationa reduzida

A glutatona é um tripeptídeo composto de cisteína, ácido glutâmico e glicina, seu grupo ativo é representado pelo grupamento - SH do resíduo de cisteína (MEISTER; ANDERSON, 1983; PASTORE *et al.*, 2003). A glutatona reduzida (GSH) está presente na maioria das células sendo mais abundante no meio intracelular. É produzida em todos os órgãos especialmente no fígado. Ela é o principal tiol não proteico envolvido na defesa celular antioxidante.

A glutatona desempenha um papel importante na manutenção das proteínas celulares e lipídios. Atua na proteção de membranas biológicas contra a peroxidação lipídica. Participa de reações de transhidrogenação e na redução de dehidroascorbato para ascorbato. Possui funções na desintoxicação de uma variedade de xenobióticos, peróxidos de hidrogênio, outros peróxidos e radicais livres. Além disso, atua como substrato para várias transferases, peroxidases e outras enzimas que previnem ou amenizam os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (MASCIO *et al.*, 2012; PASTORE *et al.*, 2003; ZAKARIA *et al.*, 2011).

3.6 Paracetamol

Paracetamol, conhecido também como acetaminofeno, é muito usado no tratamento sintomático da febre, dores de cabeça e outras dores menores devido as suas propriedades analgésica e antipirética (LIU; LU; PENG, 2011; OLALEYE; ROCHA, 2008). O paracetamol tem sido considerado uma droga bem tolerada, sem efeitos colaterais severos e excessivos (SHEEN *et al.*, 2002), no entanto, em altas doses pode causar hepatotoxicidade (PRESCOTT, 2000).

A toxicidade do paracetamol é relacionada ao seu metabolismo. Em doses terapêuticas, 60-90% da droga são metabolizadas por conjugação, formando metabólitos de sulfato e glicuronídeo. Enquanto 5-10% são oxidados por enzimas oxidases de função mista (citocromo P450) formando um metabólito altamente reativo o N-acetil-p-benzoquinona imina (NAPQI), que imediatamente se liga covalentemente a glutathiona reduzida (GSH) formando um conjugado GSH-paracetamol que posteriormente, é excretado como cisteína e conjugados de mercapturato. Apenas 1-4% de uma dose terapêutica de paracetamol são excretados inalterados na urina (GRAHAM; SCOTT; DAY, 2005; OJO *et al.*, 2006; VALE, 2003). Segundo Day e colaboradores (2000), existem relatos de casos de lesão hepática grave em pacientes com o uso de paracetamol, a longo prazo, em doses terapêuticas.

Em caso de sobredosagem de paracetamol, maiores quantidades da droga são metabolizadas por oxidação devido a saturação da via de conjugação. Com isso, se tem alta produção de NAPQI que excede a capacidade de desintoxicação da GSH pelo fígado (VALE 2003). O excesso de NAPQI causa danos no fígado associado com estresse oxidativo. Esse metabólito liga-se covalentemente a várias proteínas da célula para formar conjugados inativos (GRAHAM; SCOTT; DAY, 2005; OJO *et al.*, 2006). Estes conjugados podem causar danos irreversíveis como lesão hepática e necrose hepática celular por vários mecanismos (YAMAMOTO *et al.*, 2007). Nos Estados Unidos e no Reino Unido, o envenenamento por paracetamol tem sido mencionado como a causa mais comum de falência aguda do fígado (LARSON; POLSON; FONTANA, 2005; LEE *et al.*, 2008; O'GRADY, 2005).

Tem sido demonstrado que a ligação de NAPQI com grupos sulfidríla da GSH implica na redução da capacidade antioxidante hepática (BESSEMS; VERMEULEN, 2001). Além disso, de acordo com Murugesh e colaboradores (2005), o NAPQI pode

causar danos oxidativos de numerosos componentes celulares. Assim, a depleção de glutatona é característica da hepatotoxicidade induzida por paracetamol (CAMPOS *et al.*, 1989; EESHA *et al.*, 2011).

Estudos têm mostrado que a ingestão de altas doses de paracetamol provoca aumento da peroxidação lipídica no fígado e elevação de marcadores bioquímicos no soro como aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), lactato desidrogenase (LDH) e fosfatase alcalina (ALP) (AHMAD *et al.*, 2012; HE *et al.*, 2012; LIU; LU; PENG, 2011; ZAKARIA *et al.*, 2011).

Segundo Liu e colaboradores (2011), em junho de 2009, o comitê consultivo da agência reguladora de alimentos e medicamentos dos EUA (FDA) recomendou que novas restrições fossem feitas para proteger a população dos efeitos tóxico do paracetamol. Muitos compostos vêm sendo testados quanto à sua capacidade de proteger contra a toxicidade do paracetamol, e aqueles que possuem propriedades antioxidantes tem sido de interesse particular (YOUSEF *et al.*, 2010). Nesse contexto, os frutos devido as suas propriedades antioxidantes apresentam grande potencial de estudo nessa área.

3.7 Marcadores bioquímicos

O aumento da peroxidação lipídica e alterações nas atividades de diversas enzimas são os parâmetros bioquímicos mais utilizados para a avaliação do estresse oxidativo (BARBOSA *et al.*, 2010).

A peroxidação lipídica é um processo de degradação oxidativa dos ácidos graxos poli-insaturados por radicais livres. Esse processo resulta na formação de hidroperóxidos lipídicos e aldeídos, tais como o malondialdeído (MDA) (LIMA; ABDALLA, 2001). A quantificação de MDA tem sido utilizada como marcador para avaliar o estresse oxidativo (DOTAN; LICHTENBERG; PINCHUK, 2004).

A estimativa de marcadores bioquímicos no soro é um método quantitativo útil da extensão e do tipo de dano hepático. Esses marcadores incluem as enzimas aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), lactato desidrogenase (LDH) e fosfatase alcalina (ALP) (LEE *et al.*, 2012; SABIR *et al.*, 2012; SABIR; ROCHA, 2008).

A ALT e AST são aminotransferases que catalisam a transferência do grupo α -amino da alanina e do aspartato para o α -cetoglutarato, respectivamente. A AST é encontrada no fígado, músculo cardíaco e esquelético, rim, cérebro, pâncreas, pulmão, leucócito e eritrócitos. A ALT está presente principalmente no fígado, sendo encontrado em baixas concentrações em outros tecidos (GREEN; FLAMM, 2002; LEE *et al*, 2012). A ALT é um indicador sensível de lesão hepática aguda sendo mais seletiva que a AST (SHAH *et al.*, 2002). Os níveis das aminotransferases no soro são elevados em situação de danos no fígado devido à migração dessas enzimas para o sangue (GIRISH *et al.*, 2009b).

A LDH está presente no coração, fígado, rim, pulmão, hemácias, cérebro, músculo esquelético e tecido linfóide (PALMER, 2001). É utilizada para o diagnóstico de danos ou doenças no fígado, embora seja menos específica que AST e ALT como marcador de lesão hepática. Em dano hepatocelular, tem-se observado o aumento das concentrações da LDH no soro (GITLIN; SERIO, 1992).

A ALP é um grupo de enzimas encontrada no osso, fígado, intestino, rim, placenta e glóbulos brancos. Ela é excretada normalmente via bile pelo fígado. Injúrias no fígado devido a toxinas podem resultar em uma excreção defeituosa de ALP por hepatócitos que são percebidas pelos seus níveis aumentados no soro. A elevação dessa enzima acontece em situações de obstrução biliar ou extra-hepática e doenças ósseas (LEE *et al*, 2012; RAJESH; LATHA, 2004).

4. MATERIAL

4.1 Material vegetal

Os pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.), clone BRS 226, utilizados nesse trabalho foram obtidos do Campo Experimental de Pacajus, Ceará, pertencente a EMBRAPA. Os pedúnculos foram colhidos no estágio de maturação 6 (maduros) em novembro de 2011. Em seguida, foram transportados para o laboratório de Bioenergética da Universidade Federal do Ceará (UFC) e armazenados a – 20°C.

As castanhas de caju, clone CCP 76, utilizadas para obtenção dos ácidos anacárdicos foram colhidas no ano de 2011, na localidade de Uberaba, município Beberibe, Ceará.

4.2 Animais

Foram utilizados camundongos "swiss" machos, pesando entre 30 a 35 g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Ceará. Os animais foram mantidos sob-regime alimentar conveniente, água *ad libitum*, com ciclos de 12 horas no escuro e 12 horas no claro e condições adequadas de temperatura e umidade. O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Animal (CEPA) da UFC, sob número 19/12. Os animais foram manipulados de acordo com as normas do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

4.3 Reagentes

Todos os reagentes listados na metodologia foram de grau analítico.

5. MÉTODO

5.1. Obtenção das amostras

5.1.1 Polpa de caju

Pseudofrutos em estágio fisiologicamente maduro foram triturados e homogeneizados para a obtenção da polpa. Em seguida, a polpa foi acondicionada em empendorfs e armazenada -20°C para posterior utilização.

5.1.2 Ácidos anacárdicos

Os ácidos anacárdicos foram fornecidos pelo Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará. Para obtenção desses ácidos as castanhas foram manualmente separadas do caju para extração do líquido da casca da castanha (LCC). As cascas de castanha foram cortadas em fragmentos pequenos e o LCC foi extraído através de aquecimento brando. Em seguida, o LCC foi dissolvido em etanol e a esta solução foi adicionado hidróxido de cálcio. Esta mistura foi mantida sob forte agitação. O precipitado formado foi filtrado a vácuo e lavado com etanol. A mistura de anacardatos de cálcio foi dissolvida com acetato de etila, água e HCl e mantida sob vigorosa agitação durante 1 h. Em seguida, foi filtrada em funil de Büchner sendo o filtrado transferido para um funil de separação. Após a separação da fase aquosa, a fase orgânica foi lavada por várias vezes com água e com uma solução saturada de cloreto de sódio. A fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro, concentrada no evaporador rotatório, fornecendo um óleo escuro, caracterizado como uma mistura de ácidos anacárdicos (TREVISAN *et al.*, 2006).

5.2 Determinação do potencial antioxidante

5.2.1 Atividade antioxidante total da polpa de caju e ácidos anacárdicos

5.2.1.1 Preparo dos extratos

Os extratos utilizados para determinação da atividade antioxidante total e polifenóis totais foram obtidos a partir de 2 g de polpa de caju e 1 g de ácidos anacárdicos, seguindo a metodologia de Larrauri, Rupérez e Saura-Calixto (1997). Foram pesados 2 g de polpa e 1 g de ácidos anacárdicos, em béqueres, adicionados 40 mL de metanol 50%, homogeneizados e deixados em repouso por 60 minutos à temperatura ambiente. Então, as amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm durante 30 minutos. Após centrifugação, o sobrenadante foi recolhido em um balão volumétrico de 100 mL e denominado sobrenadante 1. Ao precipitado da primeira extração, foram adicionados 40 mL de acetona 70 %, sendo homogeneizado e deixado em repouso por 60 minutos a temperatura ambiente. Foi feita uma nova centrifugação a 5.000 rpm durante 30 minutos, sendo o sobrenadante recolhido (sobrenadante 2) e adicionado ao balão volumétrico contendo o sobrenadante 1. O volume final (balão) foi ajustado para 100 mL com água destilada.

5.2.1.2 Ensaio ABTS

O método ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido-sulfônico) utilizado foi descrito por Miller e colaboradores (1993), com modificações. Inicialmente, a partir dos extratos obtidos no item 5.2.1.1, foram preparadas três diferentes concentrações para a polpa de caju (5.000, 15.000 e 20.000 mg/L) e para ácidos anacárdicos (250 , 500 e 1.000 mg/L). Em tubos de ensaio, foram adicionados, em ambiente escuro, 30 µL do extrato e 3,0 mL da solução do radical ABTS^{•+} diluídos em álcool etílico até obtenção de uma absorvância de $0,700 \pm 0,01$ a 734 nm, preparada a partir da solução estoque de ABTS 7 mM e persulfato de potássio 140 mM, 16 horas antes da análise. Foi utilizada solução do antioxidante sintético, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico (Trolox-Sigma 2000 µM) como antioxidante padrão. A atividade antioxidante total foi calculada com base em uma

curva padrão de doses decrescentes de Trolox. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 734 nm, 6 minutos após a adição da solução do radical e os resultados expressos em μM Trolox/ g de amostra.

5.2.1.3 Ensaio DPPH

A atividade antioxidante também foi avaliada pelo método de sequestro de radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH^{*}), descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações. Inicialmente, a partir dos extratos obtidos no item 5.2.1.1, foram preparadas três diferentes concentrações para a polpa de caju (5.000, 15.000 e 20.000 mg/L) e ácidos anacárdicos (250, 500 e 1.500 mg/L). Em tubos de ensaio, foram adicionados, em ambiente escuro, 100 μL do extrato de cada diluição e 3,9 mL do radical DPPH. A atividade antioxidante total foi calculada com base em uma curva padrão de doses crescentes de DPPH. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 515 nm sendo monitoradas a cada minuto, onde foi observada a redução da absorbância até sua estabilização. A atividade antioxidante foi expressa como a concentração de antioxidante requerida para reduzir a quantidade de radicais livres em 50% (EC_{50}). Os valores de EC_{50} foram expressos em g de amostra/g DPPH.

5.2.2 Antioxidantes não enzimáticos da polpa de caju

5.2.2.1 Determinação de vitamina C

A vitamina C foi determinada de acordo com método de Strohecker e Henning (1967). Amostras de 1 g de polpa de caju foram homogeneizadas com 30 mL de ácido oxálico 0,5% (refrigerado) e adicionadas em balão volumétrico (100 mL), sendo o volume completado com ácido oxálico 0,5%. Uma alíquota de 5 mL dessa solução foi titulada com solução padronizada de 2,6-diclorofenol indofenol 0,02%, sendo o ponto de viragem detectado visualmente. Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados expressos em mg /100 g de polpa.

5.2.2.2 Determinação de antocianinas

O teor de antocianinas totais foi determinado de acordo com o método de Francis (1982). Amostras de 1 g de polpa de caju foram homogeneizadas com 30 mL de solução de etanol-HCl (1,5 N) e adicionadas em balão volumétrico de 50 mL (sem filtrar), sendo o volume completado com solução de etanol-HCl (1,5 N). O material foi deixado em repouso a 4°C por uma noite sendo depois filtrado para um béquer (50 mL). A absorvância foi medida a 535 nm. O branco foi composto apenas da solução de etanol-HCl (1,5 N). Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados expressos em mg/100g de polpa. Os cálculos foram realizados através da fórmula:

Absorbância x fator de diluição/ (98,2)

5.2.2.3 Determinação de flavonoides amarelos

O teor de flavonoides amarelos foi determinado de acordo com o método de Francis (1982). Amostras de 1 g de polpa de caju foram homogeneizadas com 30 mL de solução de etanol-HCl (1,5 N) e adicionadas em balão volumétrico de 50 mL (sem filtrar), sendo o volume completado com solução de etanol-HCl (1,5 N). O material foi deixado em repouso a 4°C por uma noite sendo depois filtrado para um béquer (50 mL). A absorvância foi medida a 374 nm. O branco foi composto apenas da solução de etanol-HCl (1,5N). Todas as análises foram feitas em duplicata e os resultados expressos em mg/100g de polpa. Os cálculos foram realizados através da fórmula:

Absorbância x fator de diluição/ (76,6)

5.2.2.4 Determinação de carotenoides totais

Os carotenoides totais foram determinados pelo método de Higby (1962). Amostras de 5 g de polpa de caju foram homogeneizada com 15 mL de álcool isopropílico e 5 mL de hexano. Após a agitação, o conteúdo foi transferido para um funil de separação de 125 mL, sendo completado o volume com água destilada. Deixou-se em repouso por 30 minutos, seguindo-se a lavagem do material. Repetiu-se essa operação por mais três vezes. Filtrou-se o conteúdo para um balão

volumétrico de 25 mL, onde foram adicionados 2,5 mL de acetona e completado o volume com hexano. O branco foi composto de 2,5 mL de acetona e 22,5 mL de hexano. As leituras foram realizadas a 450 nm e os resultados expressos em mg/100 g de polpa, calculados através da fórmula:

Carotenoides totais = $(A_{450} \times 100)/(250 \times L \times W)$, onde:

A_{450} = absorvância;

L = largura da cubeta em cm;

W = quociente entre a massa da amostra em g e o volume final da diluição em mL

5.2.2.5 Determinação de polifenóis extraíveis totais

A quantificação de compostos polifenólicos foi realizada conforme descrito por Obanda e Owuor (1997). Esse método envolve a redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos compostos fenólicos das amostras com concomitante formação de um complexo azul, cuja intensidade aumenta linearmente a 700 nm. Em tubos de ensaio, foram adicionados, em ambiente escuro, 100 µL de extrato (obtido no item 5.2.1.1), completando para 250 µL com água destilada, 250 µL da solução Folin-Ciocalteu (1:3), 500 µL da solução de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) a 20 %, 500 µL de água destilada e, em seguida, a mistura de reação foi homogeneizada. As concentrações de polifenóis solúveis totais foram calculadas com base em uma curva padrão de doses crescentes de ácido gálico 98% (Acros Organics). As leituras foram realizadas em leitor de microplacas (Spectronic Genesys 2) em comprimento de onda de 700 nm, 30 minutos após a adição dos reagentes. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (GAE)/100 g de polpa. Todas as análises foram feitas em duplicata.

5.3 Estudo do efeito protetor da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos contra estresse induzido por paracetamol

5.3.1 Preparo do paracetamol

Paracetamol em comprimido de 750 mg da marca Tylenol foi utilizado. O comprimido foi macerado e dissolvido em água a 37°C (OLALEYE; ROCHA, 2008).

A dose de paracetamol utilizada foi de 500 mg/Kg (GIRISH *et al.*, 2009a; GIRISH *et al.*, 2009b).

5.3.2 Grupos experimentais

Os animais foram divididos em oito grupos (n=10);

- Grupo controle: animais que receberam por via intra gástrica (via i.g.) 200 µL de água durante 15 dias consecutivos;
- Grupo AO: animais que receberam por via i.g. 200 µL de azeite de oliva durante 15 dias consecutivos;
- Grupo AAs: animais que receberam por via i.g. 200 µL de ácidos anarcárdicos (300 mg/Kg) solubilizado em azeite de oliva durante 15 dias consecutivos;
- Grupo PC: animais que receberam por via i.g. 200 µL de polpa de caju durante 15 dias consecutivos;
- Grupo P: animais que receberam por via i.g. 200 µL de água durante 15 dias consecutivos e que foram submetidos à ingestão de uma dose aguda de paracetamol (500 mg/kg) por via i.g.;
- Grupo AO+P: animais que receberam por via i.g. 200 µL de azeite de oliva durante 15 dias consecutivos e que foram submetidos à ingestão de uma dose aguda de paracetamol (500 mg/kg) por via i.g.;
- Grupo AAs+P: animais que receberam por via i.g. 200 µL de ácidos anarcárdicos (300 mg/Kg) solubilizado em azeite de oliva durante 15 dias consecutivos e que foram submetidos à ingestão de uma dose aguda de paracetamol (500 mg/kg) por via i.g.;
- Grupo PC+P: animais que receberam por via i.g. 200 µL de polpa de caju durante 15 dias consecutivos e que foram submetidos à ingestão de uma dose aguda de paracetamol (500 mg/kg) por via i.g.

Os animais receberam por via i.g. os tratamentos (água, azeite de oliva, ácidos anarcárdicos solubilizados em azeite de oliva e polpa de caju) durante 15 dias consecutivos. No 15º dia de tratamento, 1 hora após a última dose, foi administrada por via i.g. dose aguda de paracetamol (500 mg/Kg de peso). As amostras de sangue foram coletadas pelo plexo retro-orbital antes do início dos tratamentos (dia 0) e 24 horas após a ingestão do paracetamol (dia 16), para posterior obtenção do

soro. Em seguida, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical e os órgãos: timo, baço, rim, estômago e fígado foram removidos e observados macroscopicamente. O timo, baço, rim e fígado foram pesados. Os estômagos foram lavados com água destilada e utilizados para confecção das lâminas para avaliação da presença ou ausência de lesões. Os fígados foram imediatamente colocados em nitrogênio líquido (-196°C) e rapidamente armazenados a -80°C para análises posteriores da peroxidação lipídica, da enzima superóxido dismutase (SOD) e dos grupos sulfidrilas não proteicos (NP-SH). O estudo do efeito protetor de polpa de caju e ácidos anacárdicos baseou-se em estudo realizado por Ramanathan e Kittusamy (2011), com modificações.

A dose de ácidos anacárdicos utilizada neste trabalho foi escolhida de acordo com estudo prévio de toxicidade realizado por Carvalho e colaboradores (2011).

5.3.3 Determinação da atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP) no soro de camundongos tratados com polpa de caju e ácidos anacárdicos

5.3.3.1 Coleta de soro

O sangue dos animais foi coletado individualmente e deixado em repouso durante 2 horas à temperatura ambiente para retração do coágulo. Após esse tempo, o soro foi separado do coágulo por centrifugação a 8000 rpm por 10 minutos a 4°C, obtendo-se o soro límpido e livre de hemácias, sendo esse devidamente identificado e armazenado a -80° C para posterior análise das atividades das enzimas ALT, AST e ALP.

5.3.3.2 Determinação da atividade das enzimas ALT, AST e ALP

Utilizou-se o método cinético para a determinação das atividades séricas das enzimas ALT, AST e ALP, seguindo as recomendações do fabricante.

5.3.4 Determinação da peroxidação lipídica no fígado de camundongos tratados com polpa de caju e ácidos anacárdicos

A peroxidação lipídica foi determinada por estimativa do malondialdeído (MDA) usando o teste do ácido tiobarbitúrico (AGAR *et al.*, 1999). O fígado foi homogeneizado em tampão KCl 10% (pH 7,4) para preparação do homogenato a 10%. Um volume de 250 μ L do homogenato foi incubado em banho maria a 37°C por 60 min. Após a incubação, foram adicionados 400 μ L de ácido perclórico 35% e as amostras centrifugadas a 14000 rpm por 10 min. A 600 μ L do sobrenadante foram adicionados 200 μ L de ácido tiobarbitúrico 1,2% e levados ao banho maria a 95-100°C por 30 min. Em seguida, a solução foi retirada e deixada à temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi realizada a 532 nm em leitor de microplacas. A curva padrão foi obtida usando 1,1,3,3-tetrametoxipropano. Os resultados foram expressos como nanomoles de MDA por grama de tecido (nmol/g tecido).

5.3.5 Determinação dos grupos sulfidrilas não proteicos (NP-SH) e da atividade da enzima superóxido dismutase (SOD) no fígado de camundongos tratados com polpa de caju e ácidos anacárdicos

5.3.5.1 Determinação dos grupos sulfidrilas não proteicos (NP-SH)

Os grupos sulfidrilas não proteicos foram determinados pelo método espectrofotométrico de Sedlak e Lindsay (1968). O fígado foi homogeneizado com uma solução de EDTA 0,02M gelada, para preparação do homogenato a 10%. Em seguida, foram adicionados a uma alíquota de 0,5 mL do homogenato, 0,4 mL de água destilada e 0,1 mL de ácido tricloroacético 50% e então as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 15 min. Um volume de 0,5 mL foi então retirado do sobrenadante e adicionado 1 mL de tampão Tris 0,4 M, pH 8,9 e 25 μ L de ácido ditionitrobenzoico (DTNB) 0,01 M. A absorbância foi medida dentro de 5 min a 412 nm em leitor de microplacas. A concentração de NP-SH foi calculada através de uma curva padrão de glutathiona reduzida (GSH) e os resultados expressos em μ g de NP-SH/g de tecido.

5.3.5.2 Determinação da atividade da enzima SOD

A concentração de superóxido dismutase (SOD) foi determinada pelo método espectrofotométrico de Beauchamp e Fridovich (1971) com modificações. O fígado

foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7.8) para obtenção de um homogenato a 10% e centrifugado a 3600 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi retirado e centrifugado novamente (20 minutos, 12000 rpm, 4°C). Em uma placa de 96 poços, foram misturados 100 µL do meio de reação (tampão fosfato de potássio 50mM, EDTA 100nM e L-metionina 19,5mM pH 7,8), 5 µL da amostra (sobrenadante), 15 µL de NBT 750 µM e 30 µL de riboflavina 10µM. A placa foi exposta a lâmpada fluorescente (20 W) por 15 minutos. A absorbância foi medida a 560 nm em leitor de microplacas. Os resultados foram expressos em unidades da enzima, que é a quantidade de SOD necessária para inibir a taxa de redução do NBT em 50%, por grama de proteína.

5.3.5.2.1 Determinação de proteínas no fígado

A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Bradford (1976). O fígado foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7.8) para obtenção de um homogenato a 10% e centrifugado a 3600 rpm por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi retirado e centrifugado novamente (20 minutos, 12000 rpm, 4°C). Em uma placa de 96 poços foram adicionados 2,5 µL de amostra (sobrenadante) completando para 10 µL com água destilada e 100 µL de Bradford. A absorbância foi medida dentro de 15 min a 595 nm. A concentração de proteínas foi calculada através de uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA) e os resultados expressos em mg de proteína/g de tecido.

5.4 Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Todos os cálculos foram realizados utilizando o programa Graphpad PRISMA, versão 5.02. A análise de variância (ANOVA), seguida do teste Tukey foi usada, para comparar os dados entre os grupos, quando os resultados eram paramétricos. Para dados não paramétricos utilizou-se a análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Kruskal-Wallis. As diferenças foram consideradas significativas com um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

6.1 Determinação da atividade antioxidante total

A tabela 2 mostra os resultados obtidos para a atividade antioxidante total da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos determinada pelos métodos ABTS e DPPH. Os valores são expressos para o método ABTS em μM Trolox/g de amostra e para o método DPPH em g de amostra/g DPPH. A atividade antioxidante total pelo método ABTS foi de $14,495 \pm 0,248 \mu\text{M}$ Trolox/ g para a polpa de caju e $2.113,720 \pm 141,845 \mu\text{M}$ Trolox/ g para os ácidos anacárdicos. A atividade antioxidante total pelo método DPPH foi de $6.131,909 \pm 46,444$ g de amostra/g DPPH para a polpa de caju e $1.073,28 \pm 11,722$ g de amostra/g DPPH para os ácidos anacárdicos.

Tabela 2. Atividade antioxidante total da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos.

Atividade antioxidante total*	ABTS (μM Trolox/g)	DPPH (g de amostra/g DPPH)
Polpa de caju	$14,495 \pm 0,248$	$6.131,909 \pm 46,444$
Ácido anacárdicos	$2.113,720 \pm 141,845$	$1.073,280 \pm 11,722$

*Valores são expressos como média \pm desvio padrão

6.2 Determinação de antioxidantes não enzimáticos da polpa de caju

Os antioxidantes não enzimáticos da polpa de caju foram determinados e os resultados estão expressos na Tabela 3. Os teores observados de vitamina C, antocianinas, flavonoides amarelos e carotenoides foram de $115,62 \pm 2,058$ mg; $3,40 \pm 0,678$ mg; $10,19 \pm 1,305$ mg e $0,71 \pm 0,004$ mg por 100g de polpa de caju. O conteúdo de polifenóis extraíveis totais foi de $626,5 \pm 3,536$ mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100g de polpa de caju.

Tabela 3. Antioxidantes não enzimáticos em polpa de caju.

Antioxidantes não enzimáticos em polpa de caju *	mg/100g
Vitamina C	115,62 ± 2,058
Antocianinas	3,40 ± 0,678
Flavonoides amarelos	10,19 ± 1,305
Carotenoides totais	0,71 ± 0,004
Polifenóis extraíveis totais	626,5 ± 3,536

*Valores são expressos como média ± desvio padrão.

6.3 Avaliação do efeito protetor da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos em reposta ao estresse induzido por paracetamol

Para avaliar o efeito protetor da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos, camundongos foram divididos em 8 grupos e submetidos a diferentes tratamentos durante 15 dias consecutivos. O grupo controle corresponde aos animais que ingeriram apenas água. Os animais dos grupos AO, AAs e PC receberam apenas azeite de oliva, ácidos anacárdicos e polpa de caju, respectivamente. Os animais dos grupos P, AO+P, AAs+P e PC+P receberam água, azeite de oliva, ácidos anacárdicos e polpa de caju, além de uma dose aguda de paracetamol, respectivamente.

A tabela 4 apresenta os resultados referentes à mortalidade, peso dos animais e peso relativo dos órgãos (fígado, rim, baço e timo). Os resultados indicaram que a administração de polpa de caju e ácidos anacárdicos por 15 dias e a dose aguda de paracetamol, não provocaram alterações significativas no peso dos animais (colunas 2 e 3) e nem tampouco no peso relativo de nenhum dos órgãos avaliados dos animais submetidos aos diferentes tratamentos quando comparados com o controle (Colunas 5 a 8). Em relação à mortalidade, só foram registradas mortes de animais nos grupos AO+P e AAs+P.

Tabela 4. Peso dos animais nos dias 0 e 15 após diferentes tratamentos, mortalidade e peso relativo dos órgãos.

Grupos*	Peso dia 0 (g)	Peso dia 15 (g)	Mortalidade	Peso relativo fígado (g)	Peso relativo rim (g)	Peso relativo baço (g)	Peso relativo timo (g)
Controle	30,76± 2,978	34,66± 3,227	0/10	0,04357 ±0,005	0,006997±0, 0007	0,001777±0, 0002	0,0009452± 0,0002
AO	32,74± 2,613	36,69± 3,142	0/10	0,04191 ±0,004	0,006621±0, 0008	0,002041±0, 0004	0,0006829± 0,0002
Aas	32,82± 2,502	34,98± 2,755	0/10	0,04214 ±0,004	0,007239±0, 0007	0,002028±0, 0006	0,0006485± 0,0001
PC	32,70± 2,621	37,13± 2,913	0/10	0,03913 ±0,003	0,007553±0, 0009	0,001764±0, 0003	0,0008424± 0,0002
P	33,27± 1,567	37,33± 1,998	0/10	0,04230 ±0,004	0,006454±0, 0007	0,001641±0, 0003	0,0008073± 0,0003
AO + P	32,01± 2,192	35,76± 2,970	1/10	0,04173 ±0,002	0,007114±0, 0006	0,002194±0, 0004	0,0008160± 0,0003
AAs + P	33,99± 2,022	36,35± 2,586	1/10	0,04456 ±0,007	0,007253±0, 0009	0,001985±0, 0002	0,0007693± 0,0002
PC + P	30,85± 1,638	34,74± 2,023	0/10	0,04388 ±0,005	0,007110±0, 0006	0,001967±0, 0004	0,0006632± 0,0002

Controle: grupo tratado com água; AO: grupo tratado com azeite de oliva; AAs: grupo tratado com ácidos anacárdicos; PC: grupo tratado com polpa de caju; P: grupo tratado com água e dose aguda de paracetamol; AO + P: grupo tratado com azeite de oliva e dose aguda de paracetamol; AAs + P: grupo tratado com ácidos anacárdicos e dose aguda de paracetamol; PC+ P: grupo tratado com polpa de caju e dose aguda de paracetamol. n=10 para todos os grupos. *Valores são expressos como média ± desvio padrão.

Após análise macroscópica da mucosa gástrica, não foram observadas lesões visíveis na mucosa gástrica em nenhum grupo tratado ou não e que recebeu ou não paracetamol (Figuras 5, 6, 7 e 8). A comparação entre os animais não tratados (Figura 5A) e tratados com paracetamol (Figura 5B) indica que não houve diferença entre esses grupos em relação aos estômagos e que o paracetamol não induziu lesões macroscópicas na mucosa gástrica. Além disso, quando avaliados os estômagos de animais tratados com azeite de oliva (Figura 6A), ácidos anacárdicos (Figura 7A) e polpa de caju (Figura 8A) e comparados com os dos animais que ingeriram além desses tratamentos a dose aguda de paracetamol, não foram observadas nenhuma alteração visível (Figuras 6B, 7B e 8B).

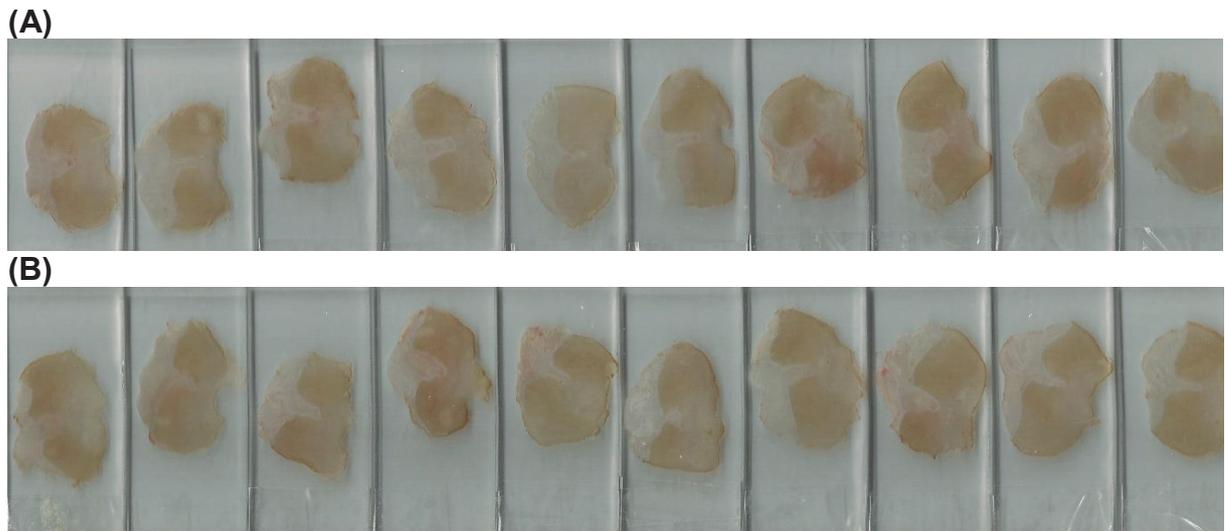


Figura 5. Efeito do paracetamol sobre a mucosa gástrica. Estômagos de animais tratados apenas com água (A) e tratados com água e dose aguda de paracetamol (B).

(A)



(B)

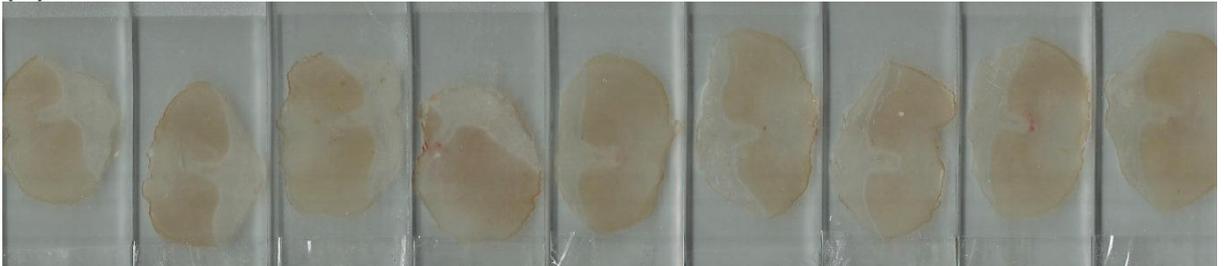


Figura 6. Efeito do paracetamol sobre a mucosa gástrica de animais tratados com azeite de oliva. Estômagos de animais tratados apenas com azeite de oliva (A) e tratados com azeite de oliva e dose aguda de paracetamol (B).

(A)



(B)



Figura 7. Efeito do paracetamol sobre a mucosa gástrica de animais tratados com ácidos anacárdicos. Estômagos de animais tratados apenas com ácidos anacárdicos (A) e tratados com ácidos anacárdicos e dose aguda de paracetamol (B).

(A)**(B)**

Figura 8. Efeito do paracetamol sobre a mucosa gástrica de animais tratados com polpa de caju. Estômagos de animais tratados apenas com polpa de caju (A) e tratados com polpa de caju e dose aguda de paracetamol (B).

A administração de paracetamol causou danos no fígado que foram evidenciados por alteração nos parâmetros bioquímicos do soro e do fígado de camundongos (Figuras 9-14). Por outro lado, o pré-tratamento com polpa de caju e ácidos anacárdicos protegeram contra danos induzidos por paracetamol em camundongos (Figuras 9-14).

As figuras 9, 10 e 11 mostram a atividade das enzimas ALT, AST e ALP no soro de camundongos, após a administração de dose aguda de paracetamol, respectivamente.

A figura 9 mostra uma elevação significativa ($p < 0,05$) na atividade da ALT em torno de 67,19% para o grupo P e de 51,49% para o grupo AO+P, quando comparados ao grupo controle. Nos grupos AAs+P e PC+P, observou-se uma redução significativa ($p < 0,05$) na atividade da ALT em torno de 56,89% e 34,19%, respectivamente, quando comparados com o grupo P. Os grupos que foram tratados somente com azeite de oliva, ácidos anacárdicos e polpa de caju (grupos AO, AAs e PC) apresentaram resultados similares aos do controle, sem diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

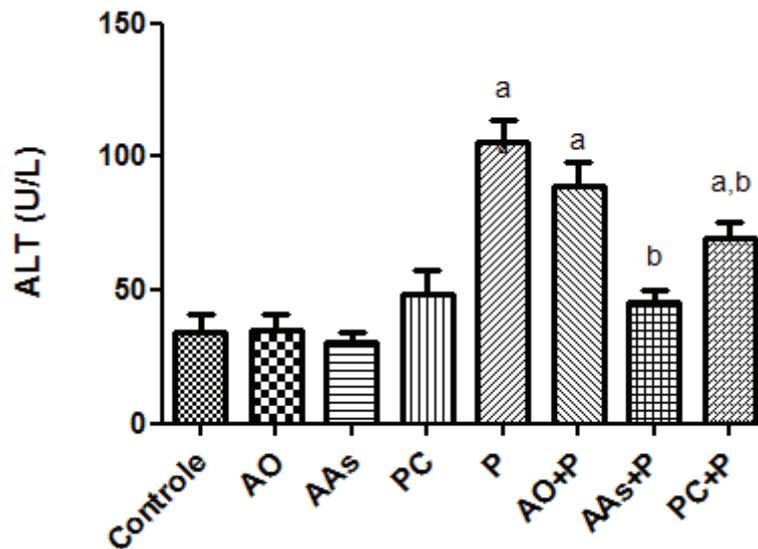


Figura 9. Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de alanina aminotransferase (ALT) no soro de camundongos submetidos a estresse por paracetamol. Controle: grupo tratado com água; AO: grupo tratado com azeite de oliva; AAs: grupo tratado com ácidos anacárdicos; PC: grupo tratado com polpa de caju; P: grupo tratado com água e dose aguda de paracetamol; AO +P: grupo tratado com azeite de oliva e dose aguda de paracetamol; AAs + P: grupo tratado com ácidos anacárdicos e dose aguda de paracetamol; PC+ P: grupo tratado com polpa de caju e dose aguda de paracetamol. Valores são expressos como média \pm desvio padrão (n=10). ^aGrupos que diferem significativamente do grupo controle ($p < 0,05$); ^bGrupos pré-tratados com ácidos anacárdicos e polpa de caju que diferem significativamente do grupo paracetamol ($p < 0,05$).

A figura 10 representa o efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de aspartato aminotransferase (AST) no soro de camundongos submetidos a estresse por paracetamol. Houve um aumento significativo ($p < 0,05$) da atividade da AST de 23,84% no grupo P e de 23,22% no grupo AO+P, quando comparados ao grupo controle. No grupo AAs+P, observou-se uma redução significativa ($p < 0,05$) na atividade da AST em torno de 22,82%, quando comparado com o grupo P. Foi também evidenciada uma redução da atividade da AST de 7,74% no grupo PC+P em relação ao grupo P, porém essa redução não foi significativa ($p > 0,05$). A atividade de AST nos grupos AO, AAs e PC, cujos animais foram tratados somente com azeite de oliva, ácidos anacárdicos e polpa de caju, respectivamente, não diferiu estatisticamente daquela do grupo controle.

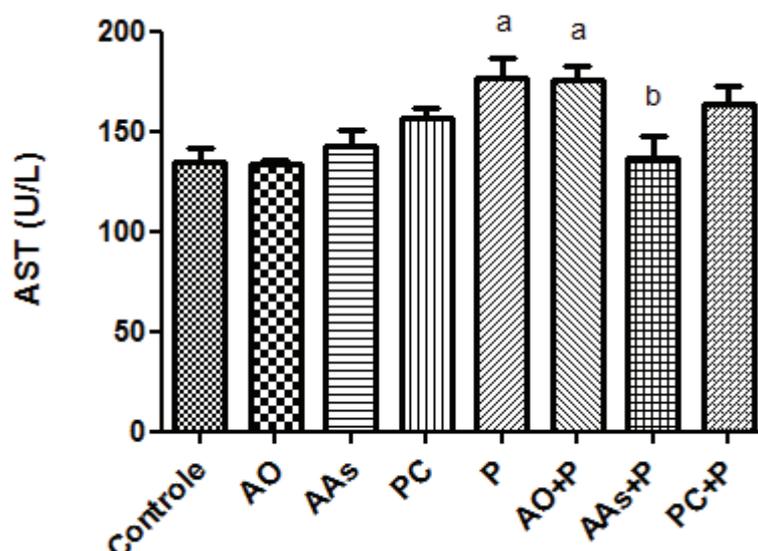


Figura 10. Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de aspartato aminotransferase (AST) no soro de camundongos submetidos a estresse por paracetamol. Controle: grupo tratado com água; AO: grupo tratado com azeite de oliva; AAs: grupo tratado com ácidos anacárdicos; PC: grupo tratado com polpa de caju; P: grupo tratado com água e dose aguda de paracetamol; AO +P: grupo tratado com azeite de oliva e dose aguda de paracetamol; AAs + P: grupo tratado com ácidos anacárdicos e dose aguda de paracetamol; PC+ P: grupo tratado com polpa de caju e dose aguda de paracetamol. Valores são expressos como média \pm desvio padrão (n=10). ^aGrupos que diferem significativamente do grupo controle ($p < 0,05$); ^bGrupos pré-tratados com ácidos anacárdicos e polpa de caju que diferem significativamente do grupo paracetamol ($p < 0,05$).

Na figura 11, está representado o efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de fosfatase alcalina (ALP) no soro de camundongos submetidos a estresse por paracetamol. Houve aumento significativo ($p < 0,05$) da atividade da ALP de 24,28% para o grupo P e de 24,89% para o grupo AO+P, quando comparados ao grupo controle. O grupo AAs+P quando comparado com o grupo P, apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) na atividade da ALP de 24,36%. Foi também evidenciada redução de 12,85% na atividade de ALP para o grupo PC+P, quando comparado ao grupo P, mas essa redução não foi significativa ($p > 0,05$). Nos grupos AO, AAs e PC, nos quais os animais foram tratados somente com azeite de oliva, ácidos anacárdicos e polpa de caju, a atividade de ALP não diferiu significativamente ($p > 0,05$) do grupo controle.

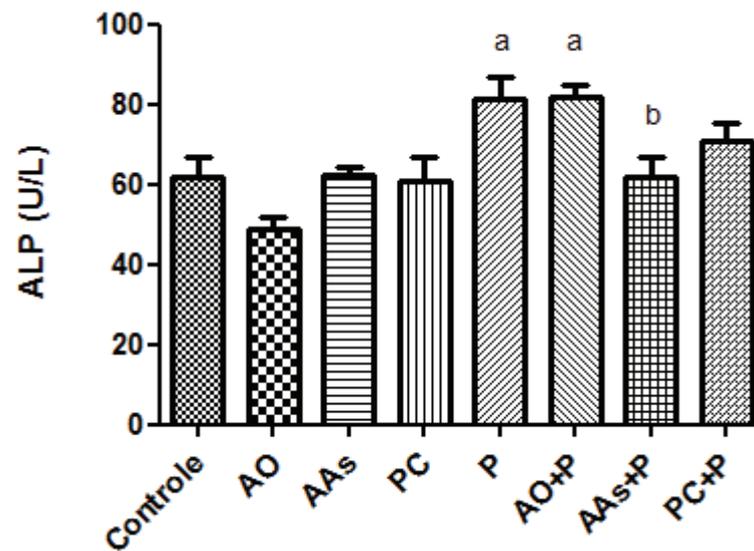


Figura 11. Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de fosfatase alcalina (ALP) no soro de camundongos submetidos a estresse por paracetamol. Controle: grupo tratado com água; AO: grupo tratado com azeite de oliva; AAs: grupo tratado com ácidos anacárdicos; PC: grupo tratado com polpa de caju; P: grupo tratado com água e dose aguda de paracetamol; AO +P: grupo tratado com azeite de oliva e dose aguda de paracetamol; AAs + P: grupo tratado com ácidos anacárdicos e dose aguda de paracetamol; PC+ P: grupo tratado com polpa de caju e dose aguda de paracetamol. Valores são expressos como média \pm desvio padrão (n=10). ^aGrupos que diferem significativamente do grupo controle ($p < 0,05$); ^bGrupos pré-tratados com ácidos anacárdicos e polpa de caju que diferem significativamente do grupo paracetamol ($p < 0,05$).

O efeito protetor da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a peroxidação lipídica após a ingestão de paracetamol foi determinado através da quantificação de MDA e os resultados estão representado na figura 12. Os grupos P e AO+P apresentaram um aumento significativo ($p < 0,05$) no nível de MDA em relação ao controle em torno de 29,57% e 30,53%, respectivamente. O grupo AAs+P quando comparado com o grupo P, mostrou uma redução significativa ($p < 0,05$) nos níveis de MDA de 29,23%. Foi evidenciada redução de 26,33% da peroxidação lipídica no grupo PC+P, quando comparado com aquela do grupo P, mas essa redução não foi significativa ($p > 0,05$). Os animais que foram tratados somente com azeite de oliva, ácidos anacárdicos e polpa de caju (grupos AO, AAs e PC) apresentaram valores de MDA similares ao do grupo controle, sem diferença significativa ($p > 0,05$).

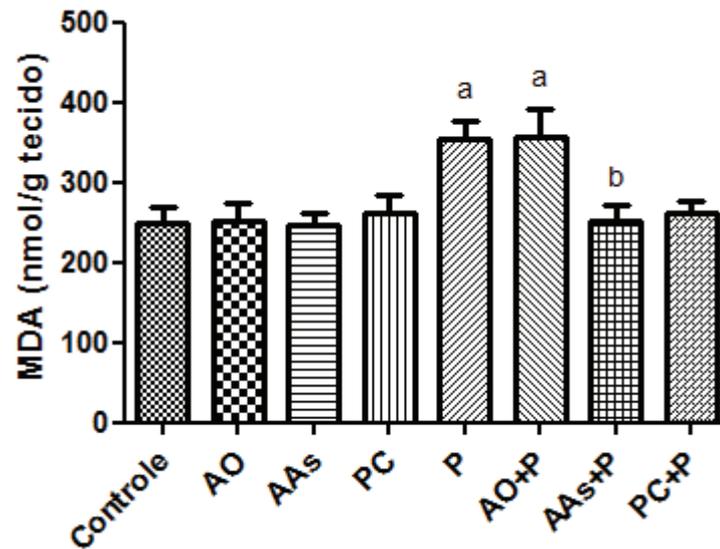


Figura 12. Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a peroxidação lipídica. O nível de malondialdeído foi determinado em homogenatos de fígados após diferentes tratamentos. Controle: grupo tratado com água; AO: grupo tratado com azeite de oliva; AAs: grupo tratado com ácidos anacárdicos; PC: grupo tratado com polpa de caju; P: grupo tratado com água e dose aguda de paracetamol; AO +P: grupo tratado com azeite de oliva e dose aguda de paracetamol; AAs + P: grupo tratado com ácidos anacárdicos e dose aguda de paracetamol; PC+ P: grupo tratado com polpa de caju e dose aguda de paracetamol. Valores são expressos como média \pm desvio padrão (n=10). ^aGrupos que diferem significativamente do grupo controle ($p < 0,05$); ^bGrupos pré-tratados com ácidos anacárdicos e polpa de caju que diferem significativamente do grupo paracetamol ($p < 0,05$).

A figura 13 mostra o nível de NP-SH no fígado após a ingestão de uma dose aguda de paracetamol. Os resultados apontam para uma diminuição significativa ($p < 0,05$) no nível de NP-SH de 70,83% no grupo P e de 61,79% no grupo AO+P, quando comparados com o grupo controle. O pré-tratamento com ácidos anacárdicos, grupo AAs+P, reduziu significativamente a depleção de NP-SH em torno de 77,49% ($p < 0,05$), assim como para o pré-tratamento com polpa de caju, grupo PC+P, cuja redução da depleção de NP-SH foi de 38,28% ($p > 0,05$), quando comparados com o grupo P. Os grupos que foram tratados somente com azeite de oliva, ácidos anacárdicos e polpa de caju e não receberam dose aguda de paracetamol, grupos AO, AAs e PC, apresentaram valores de NP-SH similares ao do controle, sem diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

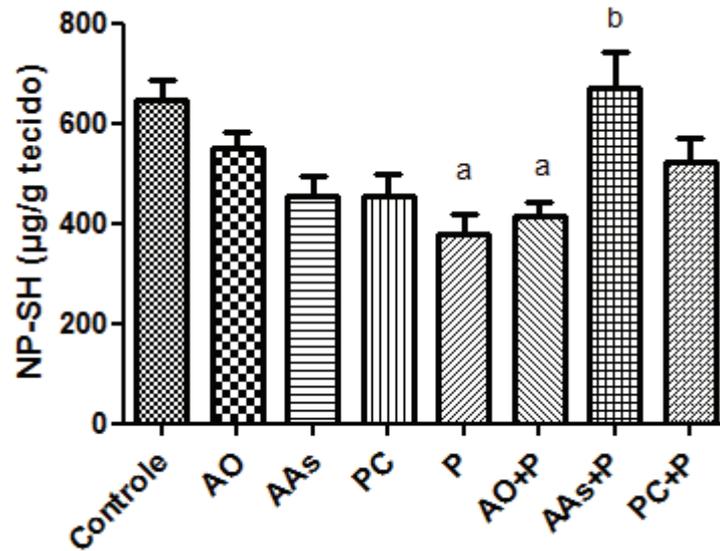


Figura 13. Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre os níveis de grupos sulfidrilas não proteicos (NP-SH) em homogenatos de fígado de camundongos submetidos a estresse por paracetamol. Controle: grupo tratado com água; AO: grupo tratado com azeite de oliva; AAs: grupo tratado com ácidos anacárdicos; PC: grupo tratado com polpa de caju; P: grupo tratado com água e dose aguda de paracetamol; AO +P: grupo tratado com azeite de oliva e dose aguda de paracetamol; AAs + P: grupo tratado com ácidos anacárdicos e dose aguda de paracetamol; PC+ P: grupo tratado com polpa de caju e dose aguda de paracetamol. Valores são expressos como média \pm desvio padrão (n=10). ^aGrupos que diferem significativamente do grupo controle ($p < 0,05$); ^b Grupos pré-tratados com ácidos anacárdicos e polpa de caju que diferem significativamente do grupo paracetamol ($p < 0,05$).

A figura 14 apresenta a atividade da SOD em homogenatos de fígado de camundongos após tratamento com dose aguda de paracetamol. A atividade da SOD diminuiu significativamente ($p < 0,05$) de 73,49% no grupo P e de 73,36% no grupo AO+P, quando comparados ao grupo controle. Os grupos AAs+P e PC+P, apresentaram uma elevação significativa ($p < 0,05$) na atividade da SOD em torno de 66,94% e 65,71%, quando comparados ao grupo P, respectivamente. Ademais as atividades da SOD nesses grupos (AAs+P e PC+P) foram semelhantes ao do controle. Os grupos que foram tratados somente com azeite de oliva, ácidos anacárdicos e polpa de caju (grupos AO, AAs e PC) não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) do grupo controle, apresentando valores de atividade de SOD similares.

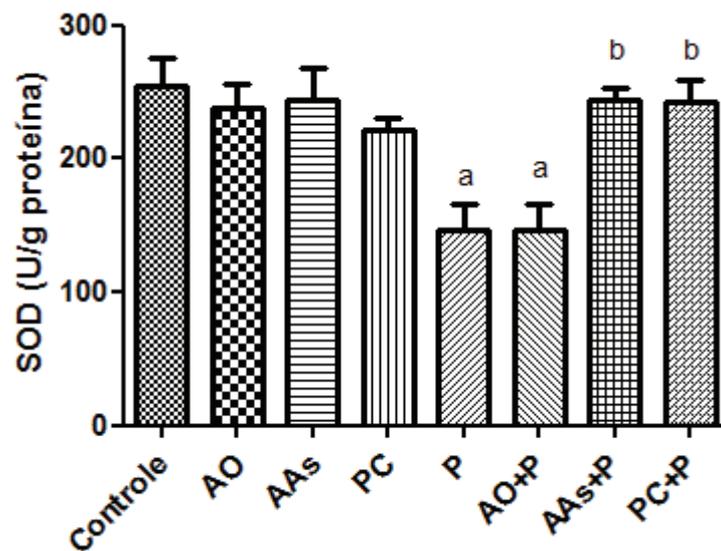


Figura 14. Efeito da administração da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos sobre a atividade de superóxido dismutase (SOD) em homogenatos de fígado de camundongos submetidos a estresse por paracetamol. Controle: grupo tratado com água; AO: grupo tratado com azeite de oliva; AAs: grupo tratado com ácidos anacárdicos; PC: grupo tratado com polpa de caju; P: grupo tratado com água e dose aguda de paracetamol; AO +P: grupo tratado com azeite de oliva e dose aguda de paracetamol; AAs + P: grupo tratado com ácidos anacárdicos e dose aguda de paracetamol; PC+ P: grupo tratado com polpa de caju e dose aguda de paracetamol. Valores são expressos como média \pm desvio padrão (n=10). ^aGrupos que diferem significativamente do grupo controle ($p < 0,05$); ^bGrupos pré-tratados com ácidos anacárdicos e polpa de caju que diferem significativamente do grupo paracetamol ($p < 0,05$).

7. DISCUSSÃO

Há uma grande variedade de espécies frutíferas, estando essa riqueza associada com as características regionais, especialmente a heterogeneidade da flora das Américas do Norte e do Sul (RUFINO *et al.*, 2010). O consumo dos frutos tropicais tem aumentado devido a um reconhecimento de seus valores terapêuticos e nutricionais. Dentre esses frutos, o caju pode ser citado por sua riqueza em vitamina C e quantidades significativas de carotenoides e antocianinas, substâncias com elevado potencial antioxidante (COURI *et al.*, 2003). Os pseudofrutos do caju utilizados nesse trabalho foram obtidos da EMBRAPA e são oriundos de cajueiros (*Anacardium occidentale* L.) do clone BRS 226. Foi feita uma avaliação da composição de fitoquímicos e da atividade antioxidante total da polpa desses pseudofrutos que seriam posteriormente administrados aos animais para determinação do efeito hepatoprotetor dessa polpa.

Os valores obtidos para a atividade antioxidante foram de 14,495 μM Trolox/ g pelo método ABTS e de 6.131,909 g de amostra/g DPPH pelo método do DPPH. Em relação ao conteúdo de fitoquímicos, foram determinados 115,62 mg de vitamina C; 3,40 mg de antocianinas; 10,19 mg de flavonoides amarelos; 0,71 mg de carotenoides e 626,5 de polifenóis por 100g de polpa de caju. Quando comparados com dados existentes na literatura, observou-se uma variação nos valores obtidos nos diferentes estudos, mas os resultados obtidos nesse trabalho encontram-se na média. Como por exemplo, Rufino e colaboradores (2010) encontraram para o pseudofruto de caju uma atividade antioxidante pelo método ABTS de 11,2 μM Trolox/ g, valor inferior ao encontrado neste trabalho. Entretanto, utilizando o método DPPH, esses mesmo autores encontraram uma atividade de 7.142 g de amostra/g DPPH, valor inferior ao encontrado para o clone BRS 226 nesse estudo. Já Abreu (2007), avaliando a capacidade antioxidante por ABTS de pseudofrutos de vários clones de caju encontrou valores entre 6,84 a 34,35 μM Trolox/ g de polpa, estando o resultado do presente estudo dentro dessa faixa. Em relação à vitamina C, Contreras-Calderón e colaboradores (2010) avaliaram vários frutos, dos quais o caju e evidenciaram valor superior de vitamina C (228 mg de vitamina C/100g de amostra) quando comparado ao valor determinado para o BRS 226. Entretanto, Maia e colaboradores (2004), analisando pedúnculos de diferentes clones de cajueiro, evidenciou 158,26 mg de vitamina C/100g de amostra, valor mais próximo

ao determinado nesse estudo. Já para antocianinas, Lopes (2011) avaliando pedúnculos de caju encontrou valores de antocianinas entre 3,44 e 9,05. Abreu (2007) encontrou em pseudofruto de diferentes clones de caju valores de antocianinas variando de 0,39 a 23,42 mg/100 g. Nesse mesmo trabalho, Abreu evidencia para flavonoides amarelos valores que variam de 30,14 a 75,19 mg/100g, valores superiores aos determinados para BRS 226. Contrariamente, Vasconcelos (2011) mostrou que o suco de caju continha 3,92 mg de flavonoides amarelos/100g, menor teor que o evidenciado nesse trabalho. Em relação aos carotenoides, o conteúdo de carotenoides encontrado para BRS 226 foi superior ao evidenciado por Rufino e colaboradores (2010). No entanto, encontra-se na faixa de 0,22 a 0,93 mg/100g determinada por Abreu (2007). O teor de compostos fenólicos determinados para BRS 226 foi superior ao encontrado por Contreras-Calderón e colaboradores (2010) que evidenciaram 445 mg de GAE/100 g de amostra. Para BRS 226, os principais antioxidantes não enzimáticos encontrados foram os polifenóis e a vitamina C com o percentual de 84,34% e 15,56%, respectivamente, em relação aos outros antioxidantes. De acordo com Abreu (2007), a ação antioxidante de pedúnculos de caju deve-se a dois compostos bioativos, os polifenóis e a vitamina C, não sendo desconsiderado o sinergismo que existe entre todos os compostos fitoquímicos encontrados no caju, que também podem contribuir para essa ação antioxidante.

Como esse estudo se propõe a trabalhar com os ácidos anarcárdicos, determinou-se a atividade antioxidante total desses compostos. Os ácidos anacárdicos são lipídeos fenólicos não isoprenoides, encontrados na família das Anacardiaceae e que despertam grande interesse por suas atividades biológicas como antioxidante (TREVISAN *et al.*, 2006), antibacteriana (KUBO; NIHE; TSUJIMOTO, 2003) e gastroprotetora (MORAIS *et al.*, 2010). Esses ácidos anacárdicos são encontrados não apenas no óleo da castanha do caju, mas também no bagaço e no suco da fruta (TOYOMIZU *et al.*, 2000 *apud* MORAIS *et al.*, 2010). Para os ácidos anacárdicos foi determinada a atividade antioxidante total pelos métodos ABTS e DPPH, verificando-se valor de 2.113,72 μ M Trolox/ g, enquanto pelo DPPH obteve-se uma atividade de 1.073,28 g de amostra/g DPPH. Trevisan e colaboradores (2006) também evidenciaram forte atividade antioxidante para esses ácidos anacárdicos. Esses autores mostraram que o pedúnculo de caju contém 1,10 g de ácidos anacárdicos por kg de pseudofruto de caju. No presente estudo foi

evidenciada uma atividade antioxidante mais elevada para os ácidos anacárdicos, quando comparados com a polpa de caju.

Uma vez determinada a atividade antioxidante da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos e o conteúdo de vitamina C, antocianinas, flavonoides amarelos, carotenoides e polifenóis da polpa de caju, partiu-se para os ensaios *in vivo* a fim de evidenciar o potencial hepatoprotetor da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos contra a hepatotoxicidade induzida por paracetamol. Esse modelo de hepatotoxicidade pelo paracetamol foi escolhido, porque apesar do paracetamol ser um fármaco bastante conhecido, amplamente utilizado como agente analgésico e antipirético e ser considerado seguro em doses terapêuticas, ao ser administrado em maiores doses e indiscriminadamente pode produzir necrose hepática em animais e humanos (AMAR, SCHIFF, 2007; SCHIDT *et al.*, 1997), podendo ser empregado como um agente hepatotóxico experimental (SABIR *et al.*, 2012; SABIR; ROCHA, 2008). O estresse oxidativo é relatado por ser o principal mecanismo na patogênese de danos no fígado induzido por paracetamol (BESSEMS; VERMEULEN, 2001; OZDEMIRLER *et al.*, 1994). De acordo com Dai e Cenderbaum (1995) durante ativação metabólica do paracetamol no sistema citocromo P450 são produzidos peróxido de hidrogênio e ânion superóxido (ROS).

Para avaliar o efeito protetor da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos, camundongos foram divididos em 8 grupos e submetidos a diferentes tratamentos, animais receberam água, azeite de oliva, ácidos anacárdicos e polpa de caju durante 15 dias consecutivos e no 15^o dia depois do último tratamento, alguns grupos receberam dose aguda paracetamol. O efeito protetor foi verificado a partir de dosagens das atividades das enzimas séricas ALT, AST e ALP, bem como da SOD e dos níveis de NP-SH hepáticos, além da peroxidação lipídica também dos fígados e observações macroscópica dos estômagos. Foram também observados parâmetros como peso do animal, peso relativo dos órgãos após tratamento e mortalidade.

Não foram observadas diferenças significativas no peso relativo de órgãos dos animais, quando comparados os grupos entre si, mesmo para os animais que receberam a dose aguda do paracetamol. Carvalho e colaboradores (2011), avaliando a toxicidade subaguda dos ácidos anacárdicos em camundongos, mostraram que a ingestão durante 30 dias de ácidos anacárdicos na dose de 300

mg/kg não causou mudanças significativas no peso relativo de órgãos como fígado, baço, rim e coração.

A análise visual realizada na mucosa gástrica de camundongos submetidos a estresse por paracetamol mostrou que o paracetamol não causa lesões macroscópicas nos estômagos (Figuras 5, 6, 7 e 8). O paracetamol não é relatado por seus efeitos tóxicos ao estômago, uma vez que sua toxicidade está relacionada com a metabolização que ocorre majoritariamente no fígado, onde portanto são evidenciado os danos (RAY *et al.*, 1996 *apud* OLALEYE *et al.*, 2010). Contrariamente ao possível efeito tóxico nos estômagos, há trabalhos mostrando efeito gastroprotetor do paracetamol, como o estudo realizado por Kolfshoten e colaboradores (1983). Esses autores demonstraram que o paracetamol reduziu lesões gástricas induzidas por etanol e hidróxido de sódio em ratos, evidenciando uma ação gastroprotetora para o paracetamol. Morais e colaboradores (2010) também demonstraram que os ácidos anacárdicos de caju apresentavam efeito gastroprotetor contra danos na mucosa gástrica induzida por etanol, sugerindo que essa gastroproteção é possivelmente mediada por mecanismos antioxidantes.

Em relação às enzimas séricas marcadoras de danos no fígado, nos grupos P e AO+P foi observado aumento da atividade de ALT, AST e ALP, quando comparados com o grupo controle em que não houve ingestão do paracetamol. Esses dados evidenciam o efeito hepatotóxico do paracetamol, mesmo em dose aguda e corroboram com os dados encontrados na literatura que mostram que a ingestão de paracetamol causa elevação das enzimas séricas ALT, AST e ALP devido a danos hepáticos (EESHA *et al.*, 2011; GIRISH *et al.*, 2009b; NAGALEKSHMI *et al.*, 2011; ZAMANI-MOGHADDAM *et al.*, 2012). Necrose hepatocelular ou danos na membrana fazem com que essas enzimas sejam liberadas na circulação sanguínea e a quantidade determinada é proporcional ao grau de dano no fígado (EESHA *et al.*, 2011; NKOSI; OPOKU; TERBLANCHE, 2005). Vale ainda salientar que o paracetamol induz necrose hepatocelular marcada pelo aumento das atividades de ALT, AST e ALP, como sugerido por Yousef e colaboradores (2010). Por outro lado, um efeito protetor pode ser evidenciado, quando frente ao estresse por paracetamol, observa-se em resposta a um pré-tratamento uma diminuição dessas atividades enzimáticas, como no caso com polpa de caju e ácidos anacárdicos (PC+P e AAs+P) em que houve decréscimo nas atividades das enzimas ALT, AST e ALP (Figuras 9, 10 e 11). O decréscimo na

atividade das enzimas ALT, AST e ALP no grupo AAs+P foi maior quando se compara com o grupo PC+P (Figuras 9, 10 e 11). Portanto, a polpa de caju e os ácidos anacárdicos apresentaram um efeito protetor contra a toxicidade induzida por paracetamol, sendo esse efeito mais efetivo em animais quem foram pré-tratados com ácidos anacárdicos. Essa atividade hepatoprotetora da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos evidenciada pela diminuição das enzimas marcadoras de danos hepáticos são atividades biológicas terapêuticas novas encontradas para esses compostos. No entanto, estudos com outros compostos vêm demonstrando a atividade hepatoprotetora, em modelo de hepatotoxicidade induzida por paracetamol, sendo evidenciada pela diminuição das atividades dessas enzimas. Como He e colaboradores (2012) que demonstraram que o pré-tratamento com rifampina diminuiu significativamente as atividades das enzimas AST e ALT no soro de camundongos após administração de paracetamol e relacionaram essa redução da atividade enzimática com efeito protetor dessa substância. Sabina e colaboradores (2010) mostraram que a piperine, um ingrediente ativo da pimenta preta reduziu significativamente as atividades das enzimas AST, ALT e ALP no soro de camundongos, atenuando a hepatotoxicidade induzida por paracetamol. Ainda, Olaleye e colaboradores (2010) trabalhando com extrato de folhas de *Boerhaavia diffusa* administrado por sete dias em camundongos, evidenciaram uma redução nas atividades das enzimas ALT, AST e ALP no soro de ratos que receberam paracetamol, mostrando que esse extrato possui propriedade hepatoprotetora contra danos no fígado induzidos por paracetamol mediada pelo aumento das defesas antioxidantes.

Outro parâmetro para avaliar danos no fígado é a mensuração da peroxidação lipídica pelos níveis de MDA, que é um dos produtos do estresse oxidativo sendo formado durante o processo de peroxidação lipídica (DOTAN; LICHTENBERG; PINCHUK, 2004; LIMA; ABDALLA, 2001). A peroxidação lipídica causa perda da fluidez e integridade da membrana além de perda das funções das células do fígado (SMITH *et al.*, 1987). Este dano peroxidativo resulta na fuga de enzimas e metabólitos para circulação (NAGALEKSHMI *et al.*, 2011). Os níveis elevados de MDA no fígado de camundongos tratados com paracetamol refletem na peroxidação lipídica e danos na membrana plasmática como consequência do estresse oxidativo (GIRISH *et al.*, 2009b). Houve um aumento nos níveis de MDA no fígado de animais dos grupos P e AO+P (Figura 12), quando comparados com o

grupo controle, que não recebeu paracetamol. Esses dados evidenciam a hepatotoxicidade do paracetamol, mesmo quando administrado em dose aguda e corrobora com alguns estudos que têm mostrado a capacidade do paracetamol de elevar os níveis de MDA no fígado, soro, rim de camundongos e ratos (AHMAD *et al.*, 2012; LIU; LU; PENG, 2011; NAGALEKSHMI *et al.*, 2011). Quando comparados os animais pré-tratados com ácidos anacárdicos e polpa de caju e que receberam paracetamol (grupos AAs+P e PC+P) com os animais não tratados que receberam paracetamol (grupo P), observou-se uma redução dos níveis de MDA em ambos os grupos pré-tratados, sendo a proteção conferida pelos ácidos anacárdicos mais efetiva, proporcionando uma maior redução desse aumento (Figura 12). Portanto, a polpa de caju e os ácidos anacárdicos conferiram proteção ao fígado contra a peroxidação lipídica. Essa proteção pode estar associada aos seus constituintes antioxidantes que podem atuar sequestrando vários tipos de radicais impedindo que estes causem danos ao tecido. Além disso, a proteção desempenhada pelos ácidos anacárdicos pode ser também devido a inibição da enzima xantina oxidase (TREVISAN *et al.*, 2006). Assim como para a redução das atividades enzimáticas encontradas nesse trabalho, o efeito hepatoprotetor evidenciado pela diminuição da peroxidação lipídica é uma atividade não antes relatada para polpa de caju e ácidos anacárdicos. No entanto, Ahmad e colaboradores (2012) mostraram que a hesperidina, principal bioflavonoide encontrado em laranja e limão doce, apresentou a capacidade de reduzir os níveis de MDA em fígado e rins de animais sofreram estresse por paracetamol, podendo ser um modulador útil para aliviar o estresse oxidativo induzido por paracetamol. Já Liu e colaboradores (2011) avaliaram a atividade hepatoprotetora dos flavonoides totais (TFs) presentes no fruto *Rosa laevigata* Michx em camundongos tratados por paracetamol e evidenciaram que a administração de TFs durante cinco dias consecutivos foi capaz de reduzir significativamente a produção de MDA em animais submetidos a estresse por paracetamol. Esses autores sugeriram que os TFs possuem uma atividade benéfica contra os efeitos tóxicos do paracetamol e poderiam ser utilizados para o desenvolvimento de uma droga hepatoprotetora. Ademais Zamani-Moghaddam e colaboradores (2012) demonstraram que o pré-tratamento e o pós-tratamento com extrato de *Fumaria vaillantii*, fumarato monometil (componente ativo de *Fumaria vaillantii*) e silimarina (flavolignana de sementes de *Silybum marianum*) reduziram a

produção de MDA aumentada no fígado de camundongos após a administração de paracetamol, possuindo assim ação hepatoprotetora.

Dando continuidade à avaliação dos danos por paracetamol, os níveis dos grupos sulfidrilas não proteicos foram determinados. Essa dosagem é importante, porque o mecanismo de toxicidade do paracetamol provoca a diminuição no conteúdo de glutatona, devido a ligação do NAPQI, metabólito reativo do paracetamol, com os grupos sulfidrilas de glutatona que resulta na depleção do “pool” de GSH no fígado (AHMAD *et al.*, 2012; MALHI, GORES, LEMASTERS, 2006; SETTY *et al.*, 2007). A glutatona (GSH) é um tripeptídeo que sequestra metabólitos tóxicos e desempenha um papel importante em sistemas de defesa antioxidante (ZAMANI-MOGHADDAM *et al.*, 2012). Os principais papéis da GSH são manter o balanço intracelular redox e eliminar xenobióticos e espécies reativas de oxigênio (ROS) (MYHRSTAD *et al.*, 2002). A GSH é a principal fonte de grupos sulfidrilas não protéicos no fígado (NP-SH). Houve uma redução nos níveis de NP-SH no fígado de animais dos grupos P e AO+P, quando comparados com o grupo controle, que não recebeu paracetamol (Figura 13). O nível de GSH também é diminuído durante o combate as ROS produzidos pelo NAPQI e alguns outros metabólitos do paracetamol (MLADENOVIC´ *et al.*, 2009). Os grupos sulfidrilas são conhecidos por estar entre os mais importantes antioxidantes endógenos (MLADNOVIC´ *et al.*, 2009; ZAKARIA *et al.*, 2011). Já para os animais pré-tratados com ácidos anacárdicos e polpa de caju e que receberam dose aguda de paracetamol (grupos AAs+P e PC+P) houve um aumento no conteúdo de NP-SH em comparação com o grupo P, sendo esse aumento mais elevado nos animais pré-tratados com ácidos anacárdicos. Evidencia-se que a polpa de caju e os ácidos anacárdicos foram capazes de minimizar a depleção de NP-SH provocada pelo paracetamol. Esse resultado pode ser atribuído ao sequestro de radicais livres desempenhados por essas substâncias e a inibição da enzima xantina oxidase pelos ácidos anacárdicos (TREVISAN *et al.*, 2006). Sabir e Rocha (2008) demonstraram que o extrato aquoso de *Solanum fastigiatum* (falsa “Jurubeba”) administrado por sete dias consecutivos em camundongos após a administração de paracetamol foi capaz de restaurar os níveis de NP-SH que foram reduzidos pela administração do paracetamol. Esses autores sugeriram que a ação protetora desse extrato está relacionada com a presença de compostos fenólicos, como rutina e quercetina, os quais já são bem conhecidos como agentes hepatoprotetores. Sabir e colaboradores (2012)

evidenciaram que o extrato etanólico de folhas de *Solidago microglossa* administrado por sete dias consecutivos em camundongos também foi capaz de restaurar os níveis de NP-SH frente a estresse por paracetamol e sugeriram que essa ação hepatoprotetora estava relacionada ao conteúdo de compostos fenólicos contidos nesse extrato. Kumar e colaboradores (2010), em estudo avaliando o efeito protetor de extrato de tubérculos de *Momordica tuberosa* contra danos no fígado induzido por paracetamol, mostraram que esse extrato inibiu a depleção dos níveis de GSH no fígado induzida pelo paracetamol, sugerindo ainda que o efeito protetor estava relacionado ao potencial antioxidante desse extrato.

Ainda para avaliar a atividade hepatoprotetora da polpa de caju e ácidos anacárdicos, foi mensurada a atividade da SOD nos homogenatos de fígados. A atividade da SOD é um índice sensível a dano hepatorenal, uma vez que essa enzima sequestra anion superóxido para formar peróxido de hidrogênio levando à diminuição de efeitos tóxicos (SABINA *et al.*, 2010). Observou-se uma diminuição da atividade dessa enzima nos grupos P e AO+P, quando comparados aos animais do grupo controle (Figura 14). Essa diminuição pode estar associada ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas pelo paracetamol, o que levaria ao consumo desta enzima na desintoxicação de ROS, como sugerido por Mladnovic´ e colaboradores (2009). A redução da atividade da SOD causada por intoxicação com paracetamol é suportada por vários estudos (KANBUR *et al.*, 2009; SABINA *et al.*, 2010; SABIR; ROCHA, 2008). Contrariamente aos achados de diminuição da atividade de SOD nos grupos P e AO+P, houve um aumento na atividade da SOD nos animais dos grupos AAs+P e PC+P, quando comparados com os animais do grupo P (Figura 14), mostrando que os ácidos anacárdicos e a polpa de caju foram capazes de prevenir a diminuição da atividade da SOD provocada pelo paracetamol. Essa prevenção pode estar relacionada a inibição da enzima xantina oxidase desempenhada pelos ácidos anacárdicos (TREVISAN *et al.*, 2006) como também ao sequestro de radicais realizados pela polpa de caju e ácidos anacárdicos, como sugerido por Nagalekshmi e colaboradores (2011) em seus trabalhos com extratos etanólicos de *Andrographis paniculata* e *Swertia chirayta*. Esses autores demonstraram que a ingestão desses extratos após administração de paracetamol em camundongos Swiss foi capaz de evitar a diminuição da atividade da SOD, devido ao sequestro de radicais pelos extratos. Segundo Murugesha e colaboradores (2005), a administração de antioxidantes diminui a redução da atividade da SOD

induzida por paracetamol. Yousef e colaboradores (2010) demonstraram que a administração de quercetina, composto fenólico abundante em alimentos e bebidas como maçã, tomate, brócolis, chá e café, por 15 dias consecutivos, foi capaz de aliviar a redução da atividade da SOD pelo paracetamol, protegendo contra injúrias oxidativas. Já Olaleye e Rocha (2008) evidenciaram efeito do tratamento com extratos de plantas (*Kigelia africana*, *Hibiscus sabdariffa*, *Calotropis procera* e *Alchornea cordifolia*) por sete dias consecutivos após a administração de paracetamol em melhorar a inibição da atividade da SOD causada por paracetamol. Esses autores sugeriram que a atividade hepatoprotetora dessas plantas pode ser mediada através da preservação de níveis normais de atividades antioxidantes.

Diante de todos os achados, fica evidente a atividade antioxidante e hepatoprotetora da polpa de caju e dos ácidos anacárdicos contra estresse induzido por paracetamol em camundongos. Essa proteção é indicada através da redução da atividade das enzimas séricas ALT, AST e ALP, dos níveis de MDA e prevenção da diminuição dos níveis de NP-SH e da atividade da SOD no fígado. O efeito hepatoprotetor deve estar associado à atividade antioxidante. Pode-se creditar o efeito hepatoprotetor da polpa, aos ácidos anacárdicos e aos diversos antioxidantes presentes, dentre os quais os polifenóis que foram mais representativos. Vale salientar que apesar dos ácidos anacárdicos serem pouco representativos na polpa (TREVISAN *et al.*, 2006), ainda assim eles estão presentes, conforme demonstrado por Agostini-Costa e colaboradores (2004) que determinaram os teores de ácidos anacárdicos em pedúnculo de oito clones de cajueiro disponíveis no Nordeste do Brasil e verificaram que 100 g de pedúnculo de caju continham de 20 a 55 mg de ácidos anacárdicos. Trevisan e colaboradores (2006) mostraram que 100 g de pedúnculo de caju possuíam 110 mg de ácidos anacárdicos. Com esses dados, pode-se inferir que, quando os camundongos foram alimentados com polpa de caju durante 15 dias eles receberam aproximadamente 3,3 mg de ácidos anacárdicos. Ademais conforme demonstrado no presente trabalho, os ácidos anacárdicos apresentam uma elevada atividade antioxidante e são capazes de conferir proteção mais efetiva contra estresse por paracetamol. Não podendo, portanto, ser negligenciada sua participação na proteção conferida pela polpa de caju.

8. CONCLUSÕES

A polpa de caju rica em vitamina C, carotenoides e polifenóis, bem como os ácidos anacárdicos revelaram efeito hepatoprotetor em resposta ao estresse induzido por paracetamol em camundongos. A capacidade antioxidante e hepatoprotetora da polpa de caju e dos ácidos anarcádicos foram evidenciadas pelo decréscimo da atividade das enzimas ALT, AST e ALP no soro e inibição da peroxidação lipídica, diminuição da depleção de NP-SH e da atividade da SOD no fígado. A ação hepatoprotetora dos ácidos anarcádicos foi mais eficiente que a da polpa de caju sugerindo-se que a proteção desempenhada pela polpa esteja relacionada aos ácidos anacárdicos e aos diversos antioxidantes presentes, dentre os quais os polifenóis que foram mais representativos.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C.R.A. **Qualidade e atividade antioxidante de pedúnculos de clones comerciais de cajueiro anão precoce**. 2007. 114 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- ACCOMANDO, S; PELLITTERI, V.; CORSELLO, G. Natural polyphenols as anti-inflammatory agents. **Frontiers in Bioscience (Scholar Edition)**, v.2, p. 318-331, 2010.
- AGAR, E.; BOSNAK, M.; AMANVERMEZ, R.; DEMIR, S.; AYYILDIZ, M.; CELIK, C. The effect of ethanol on lipid peroxidation and glutathione level in the brain stem of rat, **Neuroreport**, v. 10, p.1799-1801, 1999.
- AGOSTINI-COSTA, T.S.; JALES, K.A.; GARRUTI, D.S.; PADILHA, V.A.; LIMA, J.B.; AGUIAR, M.J.; PAIVA, J.R. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, p. 1075-1080, 2004.
- AGOSTINI-COSTA, T.S.; LIMA, M.V.; LIMA, A.; AGUIAR, M.J.; LIMA, J.B.; PAIVA, J. Tanino em pedúnculos de caju: efeito de algumas variações genéticas e climáticas. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 20, p. 267-278, 2002.
- AGOSTINI-COSTA, T.S.; SANTOS, J.R.; GARRUTI, D.S.; FEITOSA, T. Caracterização, por cromatografia em camada delgada, dos compostos fenólicos presentes em pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 18, p. 129-137, 2000.
- AHMAD, S.T.; ARJUMAND, W.; NAFEEES, S.; SETH, A.; ALI, N.; RASHID, S.; SULTANA, S. Hesperidin alleviates acetaminophen induced toxicity in wistar rats by abrogation of oxidative stress, apoptosis and inflammation. **Toxicology Letters**, v. 208, p. 149– 161, 2012.
- AMAR, P.J.; SCHIFF, E.R. Acetaminophen safety and hepatotoxicity. Where do we go from here? **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 6, p. 341–355, 2007.
- ASSUNÇÃO, R.B.; MERCADANTE, A.Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. *Food Chemistry*, v.81, p.495-502, 2003.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, 2010,23, p. 629-643, 2010.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, p.113-123, 2006.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v. 44, p. 276–287, 1971.

BESSEMS, J.G.M.; VERMEULEN, N.P.E. Paracetamol (acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanisms, analogues and protective approaches. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 31, p. 55–138, 2001.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAND-WILLIAMS, W; CUVELIER, M. E; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRITO, E.S.; ARAÚJO, M.C.P.; LIN, L.; HARNLY, J. Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. **Food Chemistry**, v. 105, p. 1112–1118, 2007.

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; NOVOA, A.J.V.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 902-908, 2007.

BROINIZI, P.R.B.; ANDRADE-WARTHA, E.R.S.; SILVA, A.M.O.; TORRES, R.P.; AZEREDO, H.M.C.; ALVES, R.E.; MANCINI-FILHO, J. Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, p. 773-781, 2008.

BUFFENSTEIN, R.; EDREY, Y.H.; YANG, T.; MELE, J. The oxidative stress theory of aging: embattled or invincible? Insights from non-traditional model organisms. **AGE**, v.30, p. 99-109, 2008.

CAMPOS, R.; GARRIDO, A.; GUERRA, R.; VALENZUELA, A. Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. **Planta Medica**, v. 55, p. 417–419, 1989.

CARVALHO, A. L. N.; ANNONI, R.; SILVA, P.R.P.; BORELLI, P.; FOCK, R.A.; TREVISAN, M.T.S.; MAUAD, T. Acute, subacute toxicity and mutagenic effects of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 135, p. 730-736, 2011.

CAVALCANTE, A. A. M.; RUBENSAM, G.; PICADA, J. N.; SILVA, E. G.; MOREIRA, J. C. F.; HENRIQUES, J. A. P. Mutagenicity, Antioxidant Potential, and Antimutagenic Activity Against Hydrogen Peroxide of Cashew (*Anacardium occidentale*) Apple Juice and Cajuina. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 41, p. 360–369, 2003.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Dietetic antioxidants: controversies and perspectives. **Química Nova**, v. 30, p. 441-449, 2007.

CHAVES, M.H.; CITÓ, A.M.G.L.; LOPES, J.A.D.; COSTA, D.A.C.; COSTA, A.F.; JÚNIOR, E.M.B. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, p. 106-112, 2010.

Conab. Companhia Nacional de Abastecimento. **Cenário sobre a castanha de caju ano – 2011**, 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_11_11_09_08_41_conab_-_conjuntura_semanal_2011_-_castanha_de_caju_-_ceara.pdf>. Acesso em: 22/11/ 2012.

CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERÓN-JAIMES, L.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, v. 44, p. 2047-2053, 2010.

COSTA, J.M.C.C.; FELIPE, E.M.F.; MAIA, G.A.; HERNANDEZ, F.F.F.; BRASIL, I.M. Production and characterization of the cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) and guava (*Psidium guajava* L.) fruit powders. **Journal compilation**, p. 299-312, 2009.

COURI, S; ALTER, P.; ABREU, F.A.P.; REYNES, M.; BRILLOUET, J.M. Propriedade antioxidante de cinco variedades de pedúnculo de cajueiro anão precoce. IN: ENAAL- Encontro Nacional de Analistas de Alimentos, 2003, Rio de Janeiro, **Anais...**Rio de Janeiro, 2003.

CUSHNIE, T.P.T.; LAMB, A.J. Antimicrobial activity of flavonoids. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 26, p. 343–356, 2005.

DAI, Y.; CEDERBAUM, A.I. Cytotoxicity of acetaminophen in human cytochrome P450E1-transfected HepG2 cells. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 273, p.1497–1505, 1995.

DAY, R.O.; GRAHAM, G.G.; WHELTON, A. The position of paracetamol in the world of analgesics. **American Journal Therapeutics**, v. 7, p. 51–54, 2000.

DEUTSCH, J.C. Dehydroascorbic acid. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p. 299–307, 2000.

DOTAN, Y.; LICHTENBERG, D.; PINCHUK, I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. **Progress in Lipid Research.**, v. 43, p. 200–227, 2004.

DU, J.; CULLEN, J.J.; BUETTNER, G.R. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1826, p. 443–457, 2012.

EBRAHIMI, A.; SCHLUESENER, H. Natural polyphenols against neurodegenerative disorders: Potentials and pitfalls. **Ageing Research Reviews**, v. 11, p. 329–345, 2012.

EESHA, B.R.; MOHANBABU, A.V.; MEENA, K.K.; SARATH, B.; VIJAY, M.; LALIT, M.; RAJPUT, R. Hepatoprotective activity of *Terminalia paniculata* against paracetamol induced hepatocellular damage in Wistar albino rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 466-469, 2011.

ERKAN, M.; WANG, S.Y.; WANG, C.Y. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and decay in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 48, p. 163–171, 2008.

FAO. Food and Agriculture Organization. **FAOSTAT Agriculture Data**, 2010. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 01/12/2012.

FERNANDES, J.B., HOLANDA, J.S., CHAGAS, M.C.M, LIMA, J.M.P., OLIVEIRA, J.S.F. Recomendações técnicas para cultivo do cajueiro, 2009. Disponível em: <http://www.emparn.rn.gov.br/contentproducao/aplicacao/emparn/arquivos/pdf/cartilha_a_cultivo%20do%20caju.pdf>. Acesso em 21/11/2012.

FERNÁNDEZ-GARCÍA, E.; CARVAJAL-LÉRIDA, I.; JARÉN-GALÁN, M.; GARRIDO-FERNÁNDEZ, J.; PÉREZ-GÁLVEZ, A.; HORNERO-MÉNDEZ, D. Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. **Food Research International**, v. 46, p. 438–450, 2012.

FRANCIS, F.J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, p.181-207, 1982.

GELLERRNAN, J. L.; SCHLENK, H. Methods for Isolation and Determination of Anacardic Acids. **Analytical Chemistry** v. 40, p. 739-743, 1968.

GIRISH, C.; KONER, B.C.; JAYANTHI, S.; RAO, K.R.; RAJESH, B.; PRADHAN, S.C. Hepatoprotective activity of six polyherbal formulations in paracetamol induced liver toxicity in mice. **Indian Journal of Medical Research**, v. 129, p. 569-578, 2009a.

GIRISH, C.; KONER, B.C.; JAYANTHI, S.;K.; RAO,K.R.; RAJESH, B.; PRADHAN, S.C. Hepatoprotective activity of picroliv, curcumin and ellagic acid compared to silymarin on paracetamol induced liver toxicity in mice. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 23, p. 735-45, 2009b.

GITLIN, N.; SERIO, K.M. Ischemic hepatitis: widening horizons. **American Journal Gastroenterology**, v. 87, p. 831–836, 1992.

GRAHAM, G.G.; SCOTT, K.F.; DAY, R.O. Tolerability of paracetamol. **Drug Safety**, v. 28, p.227–240, 2005.

GREEN, R.; FLAMM, S. AGA technical review on the evaluation of liver chemistry tests. **Gastroenterology**, v. 123, p. 1367–1384, 2002.

HA, T.J.; KUBO, I. Lipoxygenase Inhibitory Activity of Anacardic Acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 4350-4354, 2005.

HE, M.; SHIJUN, Z.; YANG, J.; XING, L.; JIANCHUN, H.; CHUNXIA, C.; ZHAONI, C. Effects and mechanisms of rimfapin on hepatotoxicity of acetaminophen in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 3142-3149, 2012.

HEO, M.Y.; YU, K.S.; KIM, K.H.; KIM, H.P.; AU, W.W. Anticlastogenic effect of flavonoids against mutagen-induced micronuclei in mice. **Mutation Research**, v. 284, p. 243-249, 1992.

HERVERT-HERNÁNDEZ, D.; GARCÍA, O. P.; ROSADO, J.L.; GOÑI, I. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. **Food Research International**, v. 44, p. 1182-1189, 2011.

HIGBY, W. K. A. Simplified method for determination of some the carotenoid distribution in natural and carotene - fortified orange juice. **Journal of Food Science**, v. 27, p. 42-49, 1962.

HOPPS, E.; NOTO, D.; CAIMI, G.; AVERNA, M.R. A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 20, p. 72-77, 2010.

HU, M.L. Dietary polyphenols as antioxidants and anticancer agents: more questions than answers. **Chang Gung Medical Journal**, v. 34, p. 449-460, 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal**, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf>. Acesso em: 01/12/2012.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. **Produção de frutas baterá recorde no Brasil**, 2011. Disponível em: <http://www.ibraf.org.br/news/news_item.asp?NewsID=8154>. Acesso em: 01/12/2012.

IPECE. **Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará**. 2012. Disponível em: <<http://www.ipece.ce.gov.br>>. Acesso em: 01/12/2012.

JANBAZ, K. H.; SAEED, S. A.; GILANI, A.H. Protective effect of rutin on paracetamol- and CCl₄-induced hepatotoxicity in rodents. **Fitoterapia**, v.73, p. 557-563, 2002.

KAMTCHOUING, P.; SOKENG, S.D.; MOUNDIPA, P. F.; WATCHO, P.; JATSA, H.B.; LONTSI, D. Protective role of *Anacardium occidentale* extract against streptozotocin-induced diabetes in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 62, p. 95-99, 1998.

KANBUR, M.; ERASLAN, G.; BEYAZ, L.; SILICI, S.; LIMAN, B.C.; ALTINORDULU, S.; ATASEVER, A. The effects of royal jelly on liver damage induced by paracetamol in mice. **Experimental and toxicologic pathology**, v. 61, p. 123-32, 2009.

KOLFSCHOTEN, A.A.V.; ZANDBERG, P.; JAGER, L.P.; NOORDWIJK, J.V. Protection by paracetamol against various gastric irritants in the rat. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 69, p. 37-42, 1983.

KONAN, N.A.; BACCHI, E.M. Antiulcerogenic effect and acute toxicity of a hydroethanolic extract from the cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112 p. 237–242, 2007.

KUBO, I.; MASUOKA, N.; HA, T.J.; TSUJIMOTO, K. Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chemistry**, v. 99 , p. 555–562, 2006.

KUBO, I.; OCHI, M.; VIEIRA, P.C.; KOMATSU, S. Antitumor Agents from the Cashew (*Anacardium occidentale*) Apple Juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p. 1012-1015, 1993.

KUBO, I.; KINST-HORI, I.; YOKOKAWA, Y. Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits. **Journal of Natural Products**, v. 57, p. 545-551, 1994.

KUBO, I.; NIHE, K.; TSUJIMOTO, K. Antibacterial Action of Anacardic Acids against Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7624-7628, 2003.

KUMAR, P.; RAO, G. D.; LAKSHMAYYA; RAMACHANDRA, S.S. Ethanol extract of *Momordica tuberosa* tubers protects liver in paracetamol-induced damage. **Archives of Biological Sciences**, v. 62, p. 999-1005, 2010.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T. Wild fruits and pulps of frozen fruits: antioxidant activity, polyphenols and anthocyanins. **Ciencia Rural**, v. 36, p. 1283-1287, 2006.

LARRAURI, J.A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p.1390-1393, 1997.

LARSON, A.M.; POLSON, J.; FONTANA, R.J. Paracetamol-induced acute liver failure: results of a United States Multicenter, prospective study. **Hepatology**, v.42, p. 1364-1372, 2005.

LEE, T.H.; KIM, W.R.; POTERUCHA, J.J. Evaluation of Elevated Liver Enzymes. **Clinical Liver Disease**, v. 16, p. 183–198, 2012.

LEE, W. M.; SQUIRES, R. H.; NYBERG JR, S. L.; DOO, E.; HOOFNAGLE, J. H. Acute liver failure: Summary of a workshop. **Hepatology**, v. 47, p. 1401–1415, 2008.

LEONG, L.P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, v. 76, p. 69–75, 2002.

- LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, p. 293-303, 2001.
- LIMA, V. L.A.G.; MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; PRAZERES, F. G.; MUSSER, R. S. LIMA, D. E.S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**, v. 90, p. 565–568, 2005.
- LIU, D.; SHI, J.; IBARRA, A.C.; KAKUDA, Y.; XUE, S.J. The scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C, and β -carotene mixtures on the DPPH free radical. **LWT Food Science and Technology**, v. 41, p. 1344–1349, 2008.
- LIU, D.; XU, Y. p53, Oxidative Stress, and Aging. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 15, p. 1669-1678, 2011.
- LIU, Y.; LU, B.; PENG, J. Hepatoprotective activity of the total flavonoids from *Rosa laevigata* Michx fruit in mice treated by paracetamol. **Food Chemistry**, v. 125, p. 719–725, 2011.
- LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, v. 4, p. 118–126, 2010.
- LOPES, M.M.A. **Qualidade e atividade antioxidante total em pedúnculos de clones de cajueiros anão precoce em diferentes estádios de maturação**. 2011. 102 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, 2011.
- MAIA, G. A.; SOUSA FILHO, M.S.M.; FIGUEIREDO, R.W.; BRASIL, I.M. Caracterização química de pedúnculos de diferentes clones de cajueiro anão precoce (*Anacardium occidentale*, L.). **Revista Ciência Agronômica**, v. 35, p. 272-278, 2004.
- MALHI, H.; GORES, G. J.; LEMASTERS, J. J. Apoptosis and necrosis in the liver: A tale of two deaths? **Hepatology**, v. 43, p. S31–S44, 2006.
- MASCIO, P.D.; MURPHY, M.E.; SIES, H. Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 1991, p. 194S-200S, 2012.
- MAZZETTO, S.E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v. 32, p. 732-741, 2009.
- MEISTER, A.; ANDERSON, M.E. Glutathione. **Annual Review Biochemistry**, v.52, p. 711-760, 1983.

MELO-CAVALCANTE, A.A.; PICADA, J.N.; RUBENSAM, G.; HENRIQUES, J.A.P. Antimutagenic activity of cashew apple (*Anacardium occidentale* Sapindales, Anacardiaceae) fresh juice and processed juice (*cajuína*) against methyl methanesulfonate, 4-nitroquinoline N-oxide and benzo[a]pyrene. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, p. 759-766, 2008.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L.; SOUQUET, J.; FULCRAND, H.; BOUCHUT, C.; REYNES, M.; BRILLOUET, J. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v. 112, p. 851–857, 2009a.

MICHODJEHOUN-MESTRES, L.; SOUQUET, J.; FULCRAND, H.; MEUDEC, E.; REYNES, M.; BRILLOUET, J. Characterisation of highly polymerised prodelphinidins from skin and flesh of four cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) genotypes. **Food Chemistry**, v. 114, p. 989–995, 2009b.

MIDDLETON JR., E.; KANDASWAMI, C. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. **Biochem Pharmaceutical**, v. 43, p. 1167–1179, 1992.

MILLER, N. J.; DIPLOCK, A. T.; RICE-EVANS, C.; DAVIES, M. J.; GOPINATHAN, V.; MILNER, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v. 84, p. 407–412, 1993.

MISHRA, N; DUBEY, A.; MISHRA, R.; BARIK, N. Study on antioxidant activity of common dry fruits. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 3316–3320, 2010.

MLADENOVIC', D.; RADOSAVLJEVIC', T.; NINKOVIC', M.; VUCEVIC', D.; JEŠIĆ-VUKIĆ-ŠTAMBUK', R.; TODOROVIC', V. Liver antioxidant capacity in the early phase of acute paracetamol-induced liver injury in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 866–870, 2009.

MORAIS, T.C. **Efeito analgésico, antiinflamatório e gastroprotetor dos ácidos anacárdicos, isolados de *Anacardium occidentale* L., em modelos experimentais.** 2010. 154 p. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Universidade Federal do Ceará, 2010.

MORAIS, T.C.; PINTO, N.B.; CARVALHO, K.M.M.B.; RIOS, J.B.; RICARDO, N.M.P.S.; TREVISAN, M.T.S.; RAO, V.S.; SANTOS, F.A. Protective effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol induced gastric damage in mice. **Chemico Biological Interactions**, v. 183, p. 264–269, 2010.

MOTHÉ, C.G.; AMARAL, P.S.T. Revestimento fenólico de blendas LCC/poliéster para cerâmicos: parâmetros cinéticos. **Revista Analytica**, v. 11, p. 40-45, 2004.

MURUGESH, K.S.; YELIGAR, V.C.; MAITI, B.C.; MAITY, T.K. Hepatoprotective and antioxidant role of *Berberis tinctoria* leaves on paracetamol induced hepatic damage in rats. **Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics**, v. 4, p. 64–69, 2005.

MYHRSTAD, M.C.; CARLSEN, H.; NORDSTROM, O.; BLOMHOFF, R.; MOSKAUG, J.J. Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the

gamma-glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 32, p. 386–393, 2002.

NAGALEKSHMI, R.; MENON, A.; CHANDRASEKHARAN, D.K.; NAIR, C.K.K. Hepatoprotective activity of *Andrographis Paniculata* and *Swertia Chirayita*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 3367–3373, 2011.

NAUDI, A.; JOVE, M.; AYALA, V.; CASSANYE, A.; SERRANO, J.; GONZALO, H.; BOADA, J.; PRAT, J.; PORTERO-OTIN, M.; PAMPLONA, R. Cellular dysfunction in diabetes as maladaptive response to mitochondrial oxidative stress. **Experimental Diabetes Research**, v. 2012, 2012.

NKOSI, C.Z.; OPOKU, A.R.; TERBLANCHE, S.E. Effect of pumpkin seed (*Cucurbita pepo*) protein isolate on the activity levels of certain plasma enzymes in CCl₄-induced liver injury in low protein fed rats. *Phys. Theor. Res.*, v. 19, p. 341–345, 2005.

O'GRADY, J.G. Acute liver failure. **Postgraduate Medical Journal**, v.81, p. 148-154, 2005.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 74, p. 209-215, 1997.

OJO, O.O.; KABUTU, F.R.; BELLO, M.; BABAYO, U. Inhibition of paracetamol-induced oxidative stress in rats by extracts of lemongrass (*Cymbropogon citrates*) and green tea (*Camellia sinensis*) in rats. **African Journal of Biotechnology**, v.5, p. 1227–1232, 2006.

OLAJIDE, O.A.; ADEROGBA, M.A.; ADEDAPO, A.D.A.; MAKINDE, J.M. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on in vivo inflammatory models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 139–142, 2004.

OLALEYE, M. T.; ROCHA, J.B.T. Acetaminophen-induced liver damage in mice: Effects of some medicinal plants on the oxidative defense system. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v.59,p. 319–327 ,2008.

OLALEYE, M.T.; AKINMOLADUN, A.C.; OGUNBOYE, A.A.; AKINDAHUNSI, A.A. Antioxidant activity and hepatoprotective property of leaf extracts of *Boerhaavia diffusa* Linn against acetaminophen-induced liver damage in rats. **Food and Chemical Toxicology** , v. 48 , p. 2200–2205, 2010.

ORSUCCI, D.; MANCUSO, M.; IENCO, E.C.; LOGERFO, A.; SICILIANO, G. Targeting mitochondrial dysfunction and neurodegeneration by means of coenzyme Q10 and its analogues. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 4053–4064, 2011.

OZDEMIRLER, G.; AYKAC, G.; UYSAL, M.; OZ, H. Liver lipid peroxidation and glutathione-related defence enzyme systems in mice treated with paracetamol. **Journal of Applied Toxicology**, v.14, p. 297–299, 1994.

PAIVA, J.R.; CARDOSO, J.M.; BARROS, L.M.; CRISÓSTOMO, J.R.; CAVALCANTI, J.J.V.; ALENCAR, E.S. Clone de Cajueiro-Anão Precoce BRS 226 ou Planalto:Nova Alternativa para o Plantio na Região Semi-Árida do Nordeste. Fortaleza: **EMBRAPA-CNPAT**. 2002. 4 p. (EMBRAPA-CNPAT. Comunicado técnico, 78).

PALMER, T. Some applications of enzymatic analysis in medicine and industry. In: *Enzymes: Biochem Biotechnol and Clin Chim.*, Horwood Publishing, Chichester, p. 340–351, 2001.

PARAMASHIVAPPA, R.; KUMAR, P.P.; RAO, P.V.S.; RAO, A.S. Design, synthesis and biological evaluation of benzimidazole/benzothiazole and benzoxazole derivatives as cyclooxygenase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 13, p. 657–660, 2003.

PASTORE, A.; FEDERICI, G.; BERTINI, E.; PIEMONTE, F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. **Clinica Chimica Acta**, v. 333, p. 19–39, 2003.

PATRA, R.C.; SWARUP, D.; DWIVEDI, S.K. Antioxidant effects of α tocopherol, ascorbic acid and L-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats. **Toxicology**, v. 162, p. 81-88, 2001.

PETTI, S.; SCULLY, C. Polyphenols, oral health and disease: A review. **Journal of Dentistry**, v. 37, p. 413-423, 2009.

PIETTA, P. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1035-1042, 2000.

PIETTA, P.; SIMONETTI, P.; GORDANA, C.; BRUSAMOLINO, A.; MORAZZONI, P.; BOMBARDELLI, E. Relationship between rate and extent of catechin absorption and plasma antioxidant status. **Biochemistry & Molecular Biology International**, v. 46, p. 895–903, 1998.

PILLAI, A., PARIKH, V.; TERRY JR., A.V.; MAHADIK, S.P. Long-term antipsychotic treatments and crossover studies in rats: Differential effects of typical and atypical agents on the expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. **Journal of Psychiatric Research**, v. 41, p. 372–386, 2007.

PRESCOTT, L.F. Therapeutic misadventure with paracetamol: fact or fiction? **American Journal of Therapeutics**, v. 7, p. 99–114, 2000.

QUEIROZ, C.; LOPES, M.L.M.; FIALHO, E.; VALENTE-MESQUITA, V.L. Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. **Food Research International**, v. 44, p. 1459-1462, 2011.

QUIÑONES, M.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. **Pharmacological Research**, 2012.

QUIRÓS, A.R.; COSTA, H.S. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 97–111, 2006.

RAJESH, M.G.; LATHA, M.S. Preliminary evaluation of the antihepatotoxic activity of Kamilari, a polyherbal formulation. **Journal Ethnopharmacology**, v. 91, p. 99-104, 2004.

RAMANATHAN, A; KITTUSAMY, R. Antihepatotoxic effect of isolated chitin from *Rhizopus oryzae* against paracetamol-induced hepatotoxicity. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, v. 6, p. 64-67, 2011.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. **Biochemical Society Transactions**, v. 24, p. 790–795, 1996.

ROSENFELDT, F.; WILSON, M.; LEE, G.; KURE, C.; OU, R.; BRAUN, L.; HAAN, J. Oxidative stress in surgery in an ageing population: Pathophysiology and therapy. **Experimental Gerontology**, 2012.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, R.E; BRITO, E.S; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, p. 996–1002, 2010.

SABINA, E. P.; SOURIYAN, A.D.H.; JACKLINE, D.; RASOOL, M.K. Piperine, an active ingredient of black pepper attenuates acetaminophen–induced hepatotoxicity in mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 3, p. 971-976, 2010.

SABIR, S. M.; ROCHA, J. B. T. Antioxidant and hepatoprotective activity of aqueous extract of *Solanum fastigiatum* (false “Jurubeba”) against paracetamol-induced liver damage in mice. **Journal of ethnopharmacology**, v. 120, p. 226-32, 2008.

SABIR, S.M.; AHMAD, S.D.; HAMID, A.; KHAN, M.Q; ATHAYDE, M.L.; SANTOS, D.B.; BOLIGON, A.A.; ROCHA, J.B.T. Antioxidant and hepatoprotective activity of ethanolic extract of leaves of *Solidago microglossa* containing polyphenolic compounds. **Food Chemistry**, v. 131, p. 741–747, 2012.

SANTOS, R.P., SANTIAGO, A.A.X., GADELHA, C.A.A., CAJAZEIRAS, J.B., CAVADA, B.S., MARTINS, J.L., OLIVEIRA, T.M., BEZERRA, G.A., RINALDO, P.S.; FREIRE, V.N. Production and characterization of the cashew (*Anacardium occidentale* L.) peduncle bagasse ashes. **Journal of Food Engineering**, v. 79, p. 1432–1437, 2007.

SAURA-CALIXTO, F.; GOÑI, I. Definition of the Mediterranean diet based on bioactive compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 49, p. 145–152., 2009.

SCHIDT, F.V.; ROCHLING, F.V.; CASSEY, D.L.; LEE, W.M. Acetaminophen toxicity in an urban country hospital. **New England Journal of Medicine**, v. 337, p. 1112–1117, 1997.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman’s reagent. **Analytical Biochemistry**, v. 25, p. 192–205, 1968.

SETTY, S.R.; QUERESHI, A.A.; SWAMY, A.H.M.V.; PATIL, T.; PRAKASH, T.; PRABHU, K.; GOUDA, A.V. Hepatoprotective activity of *Calotropis procera* flowers against paracetamol-induced hepatic injury in rats. **Fitoterapia**, v. 78, p. 451-4, 2007.

SHAH, M.; PATEL, P.; PHADKE, M.; MENON, S.; FRANCIS, M.; SANE, R.T. Evaluation of the effect of aqueous extract from powders of root, stem, leaves and whole plant of *Phyllanthus debilis* against CCL4 induced rat liver dysfunction. **Ind. Drugs**, v. 39, p. 333-337, 2002.

SHEEN, C.L.; DILLON, J.F.; BATEMAN, D.N.; SIMPSON, K.J.; MACDONALD, T.M. Paracetamol toxicity: epidemiology, prevention and costs to the health-care system. **The Quarterly Journal of medicine**, v.95, p. 609-619, 2002.

SHOBHA, S.V.; KRISHNASWAMY, P.R.; RAVINDRANATH, B. Phenolic lipid composition during development of cashew. **Phytochemistry**, v. 31, p. 2295-2297, 1992.

SHOBHA, S.V.; RAMADOSS, C.S.; RAVINDRANATH, B. Inhibition of soybean lipoxygenase-1 by anacardic acids, cardols, and cardanols. **Journal of Natural Products**, v. 57, p. 1755-1757, 1994.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental Physiology**, v. 82, p. 291-295, 1997.

SMITH, S.M.; GRISHAM, M.B.; NANCY, E.A.; GRANGER, D.A.; KVIETYS, P.R. Gastric mucosal injury in the rat. Role of iron and xanthine oxidase. **Gastroenterology**, v. 92, p. 950-956, 1987.

STROHECKER, R., HENNING, H.M. **Analisis de vitaminas: métodos comprobados**, Madrid, Ed. Paz Montalvo, 1967.

SUNG, B.; PANDEY, M.K.; AHN, K.S.; YI, T.; CHATURVEDI, M.M.; LIU, M.; AGGARWAL, B.B. Anacardic acid (6-nonadecyl salicylic acid), an inhibitor of histone acetyltransferase, suppresses expression of nuclear factor-KB-regulated gene products involved in cell survival, proliferation, invasion, and inflammation through inhibition of the inhibitory subunit of nuclear factor-KB α kinase, leading to potentiation of apoptosis. **Blood**, v. 111, p. 4880-4891, 2008.

TRABER, M.G.; ATKINSON, J. Vitamin E, Antioxidant and Nothing More. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 43, p. 4-15, 2007.

TRABER, M.G.; STEVENS, J.F. Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 51, p. 1000-1013, 2011.

TREVISAN, M.T.S.; PFUNDSTEIN, B.; HAUBNER, R.; WÜRTELE, G.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H.; OWEN, R.W. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 44, p. 188-197, 2006.

- VALE, A. Paracetamol (Acetaminophen). **Medicine**, v.31, p. 67-68, 2003.
- VANDERLINDE, F.A.; LANDIM, H.F.; COSTA, E.A.; GALDINO, P.M.; MACIEL, M.A.M.; ANJOS, G.C.; MALVAR, D.C.; CÔRTEZ, W.S.; ROCHA, F.F. Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, p. 437-442, 2009.
- VASCONCELOS, M.S. **Atividades antioxidante, anti-inflamatória e cicatrizante do caju (*Anacardium occidentale* L.)**. 2011. 78 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
- YAMAMOTO, T.; TOMIZAWA, K.; FUJIKAWA, M.; SATO, Y.; YAMADA, H.; HORII, I. Evaluation of human hepatocyte chimeric mice as a model for toxicological investigation using panomic approaches – effect of acetaminophen on the expression profiles of proteins and endogenous metabolites in liver, plasma and urine. **Journal of Toxicological Sciences**, v. 32, p. 205–215, 2007.
- YOUSEF, M.I.; OMAR, S.A.M.; EL-GUENDI, M.I.; ABDELMEGID, L.A. Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 3246–3261, 2010.
- ZAKARIA, Z.A.; ROFIEE, M.S.; SOMCHIT, M. N.; ZURAINI, A.; SULAIMAN, M. R.; TEH, L. K. ; SALLEH, M. Z.; LONG, K. Hepatoprotective Activity of Dried- and Fermented-Processed Virgin Coconut Oil. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, p. 1-8, 2011.
- ZAMANI-MOGHADDAM, E.; AZAMI, K.; MINAEI-ZANGI, B.; MOUSAVI, S.Z.; SABZEVARI, O. Protective activity of *Fumaria vaillantii* extract and monomethyl fumarate on acetaminophen induced hepatotoxicity in mice. **International Journal of Pharmacology**, v. 8, p. 177-184, 2012.
- ZHANG, C.; LIU, J.; PAN, H.; YANG, X; BIAN, K. Mitochondrial dysfunction induced by excessive ROS/RNS-metabolic cardiovascular disease and traditional Chinese medicines intervention. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v.36, p. 2423-2428, 2011.