



AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA APÓS ADMINISTRAÇÃO AGUDA DE UMA MANTEIGA INDUSTRIALIZADA OBTIDA A PARTIR DAS SEMENTES DO BACURI (*Platonia insignis* MART.)

Maisa Gomes da Silva¹  

Ana Karina Marques Fortes Lustosa²  

Simone Kelly Rodrigues Lima¹  

Angélica Gomes Coelho¹  

Celyane Alves Piauilino¹  

Michel Muálem de Moraes Alves³  

Fernando Aécio de Amorim Carvalho³  

Antônia Maria das Graças Lopes Citó²  

Daniel Dias Rufino Arcanjo¹  

¹ LAFMOL–Laboratório de Estudos Funcionais e Moleculares em Fisiofarmacologia, Departamento de Biofísica e Fisiologia, Universidade Federal do Piauí - UFPI, Teresina, PI, Brasil

² LAGO–Laboratório de Geoquímica Orgânica, Universidade Federal do Piauí -UFPI, Teresina, PI, Brasil

³ LAA–Laboratório de Atividade Antileishmania, Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais -NPPM, Universidade Federal do Piauí - UFPI, Teresina, PI, Brasil

RESUMO

A manteiga extraída de sementes de bacuri (*Platonia insignis*) tem seu uso bastante difundido como matéria prima na formulação de produtos cosméticos. Ademais, com os avanços das pesquisas, outras propriedades biológicas benéficas para a saúde têm sido investigadas. Com isso, ensaios para a avaliação da segurança para consumo são primordiais. Este estudo teve como objetivo avaliar parâmetros de toxicidade *in vitro* e *in vivo* da manteiga industrializada obtida das sementes de bacuri (MIB). A atividade citotóxica foi realizada por meio do ensaio do MTT em macrófagos murinos e em eritrócitos de sangue de carneiro e a avaliação toxicológica aguda oral *in vivo* foi realizada através do Teste de Dose Fixa. Nos ensaios *in vitro*, observou-se uma redução da viabilidade celular por avaliação da atividade mitocondrial de modo dependente de concentração, com valor de concentração citotóxica média (CC₅₀) igual a 124,036 µg/mL e baixa atividade hemolítica, uma vez que a MIB promoveu menos de 10% de hemólise na concentração mais alta testada (800 µg/mL), não sendo possível determinar a concentração hemolítica média. No ensaio *in vivo*, não foram observadas mortes ou alterações nos parâmetros clínicos e comportamentais avaliados, assim como nos parâmetros bioquímicos séricos, no peso relativo e na avaliação macroscópica dos órgãos. Todos esses resultados demonstram um adequado perfil de segurança, viabilizando a realização de testes de toxicidade subcrônicos, a fim de permitir a exploração segura do potencial terapêutico deste produto.

Submetido 22/02/2023 - Aceito 05/06/2023

PALAVRAS-CHAVE: Antioxidante. MTT. OECD. Citotoxicidade. Toxicologia.

**TOXICOLOGICAL EVALUATION AFTER ACUTE ADMINISTRATION OF AN
INDUSTRIALIZED BUTTER OBTAINED FROM BACURI SEEDS
(*Platonia insignis* MART.)**

ABSTRACT

Butter extracted from bacuri seeds (*Platonia insignis*) is widely used as a raw material in the formulation of cosmetic products. Furthermore, with the advances in research, other biological properties beneficial to health have been investigated. Therefore, tests to assess the safety for consumption are essential. This study aimed to evaluate *in vitro* and *in vivo* toxicity parameters of industrialized butter obtained from bacuri seeds (MIB). Cytotoxic activity was performed using the MTT assay in murine macrophages and in sheep blood erythrocytes and the acute oral toxicological evaluation *in vivo* was performed using the Fixed Dose Test. In the *in vitro* assays, a concentration-dependent reduction in cell viability was observed by evaluating the mitochondrial activity, with a mean cytotoxic concentration value (CC₅₀) equal to 124.036 µg/mL and low hemolytic activity, since MIB promoted less than 10% hemolysis at the highest concentration tested (800 µg/mL), and it is not possible to determine the average hemolytic concentration. In the *in vivo* test, no deaths or alterations were observed in the evaluated clinical and behavioral parameters, as well as in the serum biochemical parameters, in the relative weight and in the macroscopic evaluation of the organs. All these results demonstrate an adequate safety profile, enabling the performance of subchronic toxicity tests, in order to allow the safe exploration of the therapeutic potential of this product.

KEYWORDS: Antioxidant. MTT. OECD. Cytotoxicity. Toxicology.

1 INTRODUÇÃO

A espécie *Platonia insignis* Mart., uma planta nativa da Região Amazônica Brasileira popularmente conhecida como “bacurizeiro”, distribui-se naturalmente em todos os Estados das regiões Norte e Nordeste do Brasil (LUSTOSA *et al.*, 2016). A polpa dos frutos de *P. insignis* é largamente empregada em indústria alimentícia como matéria-prima para a produção de sucos, sorvetes, doces e bebidas, com promissor potencial antioxidante (COSTA JÚNIOR *et al.*, 2011; NASCIMENTO *et al.*, 2014). As sementes são usadas na produção de sabões ou manteigas e o material graxo extraído a partir do óleo das sementes tem sido usado no tratamento de diversas doenças em humanos e animais, aproveitando-se suas ações no combate a queimaduras, eczemas, herpes, diarreia e feridas. Estudos têm reportado atividade antimicrobiana, antitumoral, citotóxica, anti-inflamatória e antileishmania para as sementes de *P. insignis* (AGRA; FREITAS; BARBOSA FILHO 2007; LUSTOSA *et al.*, 2016, 2018).

Em virtude do uso popular, essa espécie vegetal vem atraindo inúmeros pesquisadores e destacando-se graças as suas inúmeras propriedades biológicas, tais como atividade vasorrelaxante (ARCANJO *et al.*, 2014), anti-hipertensiva (OSÓRIO *et al.*, 2020),

leishmanicida (BEZERRA *et al.*, 2021; COSTA JÚNIOR *et al.*, 2013a; LUSTOSA *et al.*, 2021), gastroprotetora (NASCIMENTO *et al.*, 2023), antioxidante (CAVALCANTE *et al.*, 2020; COSTA JÚNIOR *et al.*, 2013b; NASCIMENTO *et al.*, 2014; SILVA, 2019) e fotoprotetora (SILVA *et al.*, 2021). O óleo extraído da semente, denominado manteiga de bacuri, possui relatos na medicina popular e evidências na literatura científica sobre sua eficácia no tratamento de diversas enfermidades (AGRA; FREITAS; BARBOSA FILHO, *et al.*, 2007), por seu potencial antiglicação de hemoglobina, hipocolesterolemizante, antioxidante e hepatoprotetor em modelo experimental de diabetes e dislipidemia (LIMA *et al.*, 2021; LINDOSO *et al.*, 2022). Além do mais, há relatos de baixa toxicidade em modelos *in vitro* e *in vivo*, assim como capacidade imunomoduladora do extrato hexânico obtido em bancada (LUSTOSA *et al.*, 2016) e da manteiga obtida industrialmente (LUSTOSA *et al.*, 2018), demonstrando a viabilidade de utilização do produto para o desenvolvimento de novos fármacos e nutracêuticos.

Embora haja muitos relatos da utilização de óleos e gorduras na medicina popular, é com o avanço das pesquisas nesse campo que se tem obtido uma maior compreensão sobre composição, toxicidade, mecanismos de ação e atividade biológica desse produto (HIDALGO; NUNOMURA; NUNOMURA, 2016). O potencial de utilização da manteiga do bacuri como método terapêutico alternativo a outros tratamentos convencionais pode ser uma vantagem tanto do ponto de vista econômico, como por uma maior aceitabilidade, visto que seu uso pode estar associado a uma menor manifestação de efeitos colaterais durante o tratamento (BEZERRA *et al.*, 2020; LUSTOSA *et al.*, 2020).

Diante dos inúmeros efeitos farmacológicos reportados para a espécie *P. insignis*, torna-se indispensável uma análise completa dessa manteiga com o intuito de produzir informações que assegurem ou não seu uso, mediante os ensaios toxicológicos, realizados através de testes *in vitro* e *in vivo*. Neste contexto, este estudo teve como objetivo avaliar parâmetros de toxicidade e atividade citotóxica da manteiga industrializada obtida das sementes do bacuri.

2 METODOLOGIA

2.1 Obtenção da Manteiga

A manteiga industrializada das sementes do bacuri (MIB) foi obtida comercialmente da empresa Amazon Oil Indústria e Comércio Ltda. (Ananindeua, PA, Brasil), produtora da manteiga no Brasil, sob o lote AMO081005/2015.

2.2 Ensaios in vitro

2.2.1 Avaliação toxicológica

2.2.1.1 Animais e cultivo celular

Foram utilizados camundongos BALB/c (20-30g) machos entre 7 e 12 semanas de vida, provenientes do Biotério Setorial de Experimentação I, localizado no Núcleo de Pesquisa em Plantas Medicinais (NPPM) da Universidade Federal do Piauí. Os animais foram mantidos durante todo o período de estudo em condições controladas de iluminação (ciclo 12 h claro/escuro) e temperatura (23 ± 2 °C), com água e ração *ad libitum*, os quais foram eutanasiados de acordo com a Resolução Nº 1000/2012-CRMV. Os procedimentos foram realizados após aprovação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal do Piauí, Brasil (Nº 457/18).

Três dias após a administração intraperitoneal de 1,5 mL de tioglicolato sódico 3,0%, os animais foram eutanasiados e imersos em álcool 70% por 1 min para assepsia. Em fluxo laminar, adicionou-se 8,0 mL de PBS estéril na cavidade peritoneal. Em seguida, a solução contendo macrófagos peritoneais foi aspirada e transferida para um tubo estéril em banho de gelo e submetida a duas centrifugações a 1500 rpm a 4 °C durante 10 min, com sucessivas lavagens com solução salina estéril (NaCl 0,9%). Após a última lavagem, o sobrenadante foi descartado e as células ressuspensas em 2,0 mL de meio de cultura RPMI 1640 suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10%, penicilina 10.000 UI/mL e estreptomicina 10 mg/mL. A contagem dos macrófagos viáveis foi realizada na câmara de Neubauer, na presença do corante Azul de Tripán para análise de viabilidade celular (RODRIGUES *et al.*, 2015).

2.2.1.2 Citotoxicidade da MIB pelo ensaio do MTT em macrófagos

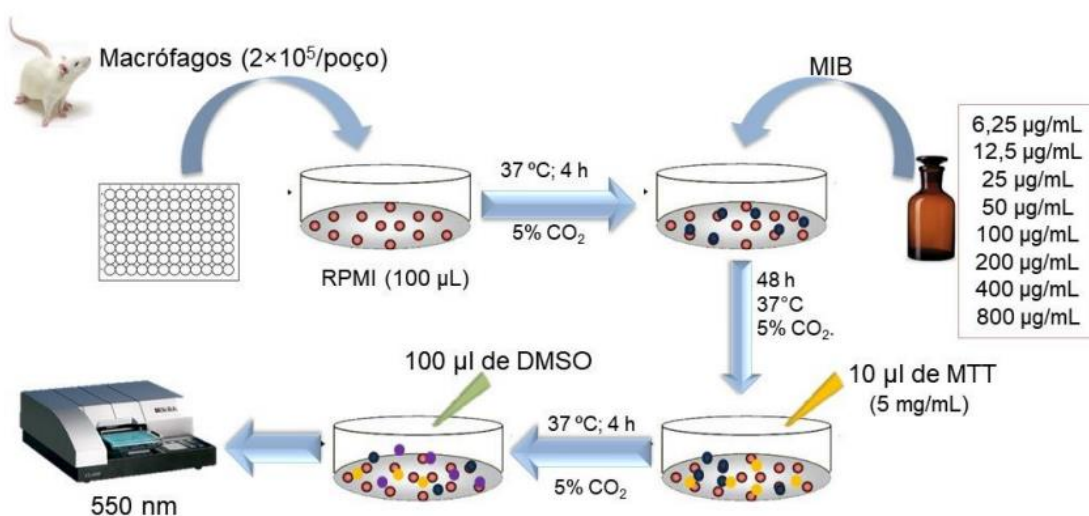
A avaliação da atividade citotóxica da MIB em macrófagos murinos foi realizada pelo ensaio do MTT, esquematizado na Figura 1. Em placas de 96 poços, os macrófagos (2×10^5 /poço) foram incubados com 100 μ L de meio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, St Louis, EUA) a 37 °C em ambiente com 5% de CO₂ durante 4 horas, para adesão celular. Em seguida, a MIB foi incubada em diferentes concentrações (6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400 e 800 μ g/mL) durante 48 h a 37 °C e CO₂ à 5%. Logo após, adicionou-se 10 μ L do MTT (brometo de 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) a partir de uma solução estoque a 5 mg/mL em PBS, e incubou-se por mais 4 h, sob as mesmas condições de temperatura e CO₂. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e 100 μ L de DMSO foram adicionados em cada poço. A placa foi mantida sob agitação por 30 min para completa dissolução do formazan. As

absorbâncias foram lidas em um leitor de microplacas de elisa (ELx800™, BioTek® Instruments, EUA) em comprimento de onda de 550 nm e os resultados foram expressos em CC₅₀ (concentração citotóxica média) com intervalo de confiança calculados por regressão não-linear, sendo o grupo controle considerado como contendo 100% de células viáveis (ALVES *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2015).

2.2.1.3 Atividade hemolítica da MIB em eritrócitos de carneiro

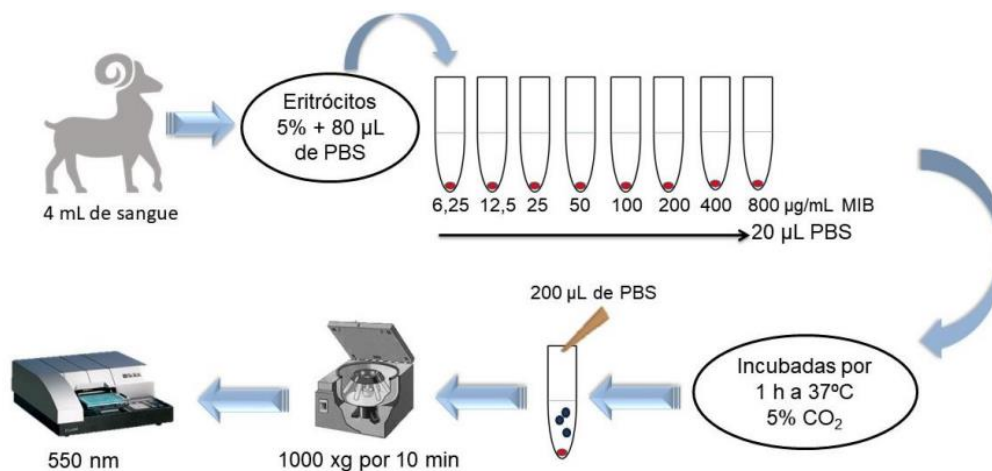
Para a avaliação da atividade hemolítica, foram utilizados eritrócitos de sangue de carneiro, obtidos a partir de 4 mL de sangue total coletado com anticoagulante (EDTA). O carneiro não foi submetido a nenhum outro procedimento experimental anterior à coleta. Os eritrócitos foram diluídos em 80 μ L de PBS, ajustando a concentração do sangue para 5% de hemácias. Em seguida, a MIB foi adicionada em diferentes concentrações (6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400 e 800 μ g/mL), em volume de 20 μ L de PBS. Logo após, foram incubados durante 1 h a 37 °C e CO₂ 5% e a reação interrompida pela adição de 200 μ L de PBS. Posteriormente, as suspensões foram centrifugadas a 1000×g, por 10 min em temperatura ambiente. O sobrenadante foi submetido à análise espectrofotométrica em comprimento de onda de 550 nm, para determinação da atividade hemolítica, conforme esquema na Figura 2. A ausência (controle negativo) e 100% de hemólise (controle positivo) foram determinadas, substituindo a solução de amostra testada com igual volume de PBS e água Milli-Q estéril, respectivamente. Os resultados foram expressos em porcentagem e em concentração hemolítica média (CH₅₀), considerando o controle positivo como 100% de hemólise (ALVES *et al.*, 2017).

Figura 1: Esquematização do teste de viabilidade celular de macrófagos peritoneais murinos.



Fonte: Autoria Própria

Figura 2: Esquemática do teste de atividade hemolítica da MIB em eritrócitos de sangue



Fonte: Autoria Própria

2.2.1.4 Análise Estatística

Os ensaios *in vitro* foram realizados em triplicata para cada amostra cujos valores de CC₅₀ e CH₅₀ foram calculados através da expressão dos resultados como uma porcentagem dos controles e determinados graficamente a partir das curvas concentração resposta por regressão não linear com intervalo de confiança de 95%.

2.3. Ensaios *in vivo*

2.3.1. Animais utilizados nos protocolos

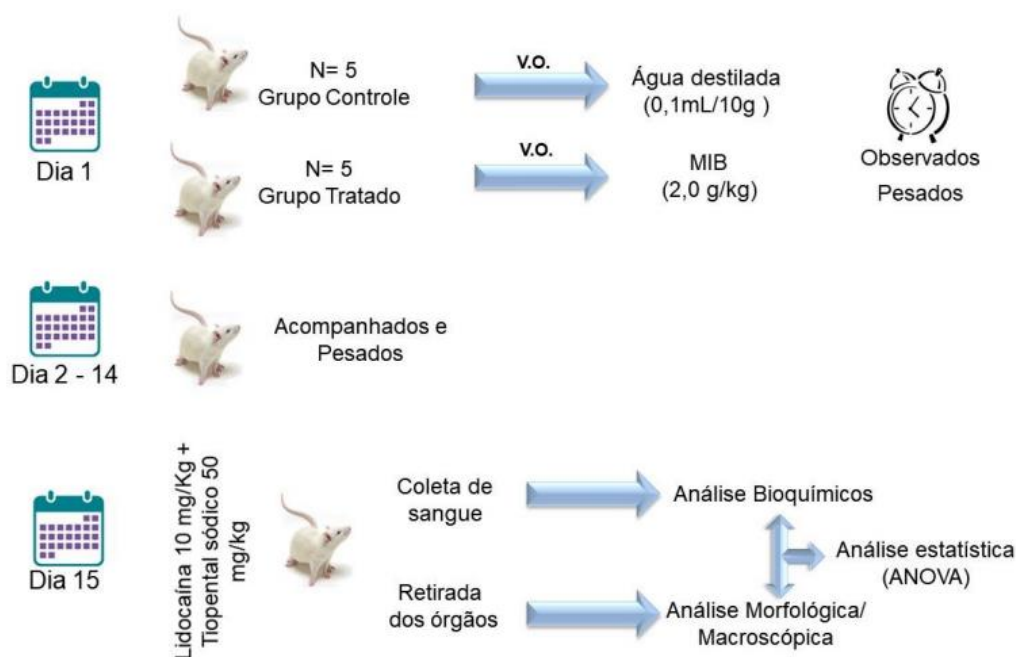
Foram utilizadas ratas Wistar fêmeas (*Rattus norvegicus*) provenientes do Biotério Setorial de Experimentação, localizado no Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais (NPPM) da Universidade Federal do Piauí. Os animais foram mantidos durante todo o período de estudo em condições controladas de iluminação (ciclo 12 h claro/escuro) e temperatura (23 ± 2 °C), com livre acesso a água e alimentação. Os procedimentos realizados estão de acordo com as normas internacionais preconizadas pela OECD e ocorreram com aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí, Brasil (Nº 457/18).

2.3.2 Toxicidade aguda

A avaliação toxicológica foi realizada através do Teste de Dose Fixa de acordo com a Diretriz 420 da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE) com algumas modificações (LUSTOSA *et al.*, 2016; SERAFINI *et al.*, 2011). Os animais foram distribuídos em dois grupos de cinco animais cada. Animais do grupo controle receberam através de gavagem água destilada (0,1 mL/10 g de peso corporal) e o outro grupo recebeu MIB

na dose de 2 g/kg. Logo após a administração, os parâmetros clínicos (variações no peso corporal e no consumo de ração e água, análise hematológica e bioquímica) e comportamentais foram avaliados durante as primeiras 8 horas e, em seguida, diariamente ao longo de 14 dias, conforme reconhecimento do protocolo e avaliação dos sinais clínicos recomendados pela OCDE (2002a; 2002b). No 15º dia, os animais foram anestesiados com lidocaína 10 mg/kg e tiopental sódico 50 mg/kg, e amostras de sangue foram coletadas para análise de parâmetros bioquímicos, tais como glicose, ureia, creatinina, alanina aminotransferase (ALT), colesterol total, fosfatase alcalina (FA) e proteínas. Após eutanásia dos animais com uma dose letal de tiopental sódico (50 mg/kg, via intraperitoneal), os órgãos (rins, fígado, coração, pulmão, coração e estômago) foram coletados para análise morfológica e macroscópica quanto à textura, consistência e cor. Tendo o peso relativo dos mesmos sido calculado através da fórmula: $[\text{peso do órgão (g)}/\text{peso do animal no dia da necropsia (g)} \times 100]$. Além disso, investigou-se a presença de lesões gástricas de acordo com metodologia proposta por Fernandes *et al.* (2010).

Figura 3: Esquema do teste de toxicidade aguda por via oral



Fonte: Autoria Própria

2.3.3 Avaliação de dano oxidativo

2.3.3.1 Atividade da catalase

A atividade da catalase foi determinada pelo coeficiente de extinção molar do peróxido de hidrogênio. Essa redução foi monitorada espectrofotometricamente por 6 min a

comprimento de onda de 230 nm, e a atividade enzimática calculada usando o coeficiente de absortividade molar de H_2O_2 (BEERS; SIZER, 1951; CHING; BEUTLER 1975). Os resultados foram expressos em mM/min/mg de tecido.

2.3.3.2 Determinação da Glutathiona Reduzida (GSH)

Para a determinação dos níveis de GSH, seguiu-se o método proposto por Akerboom e Sies (1981). As amostras foram analisadas espectrofotometricamente a comprimento de onda de 412 nm após e os resultados foram expressos em $\mu\text{g/g}$ de tecido.

2.3.4 Análise estatística

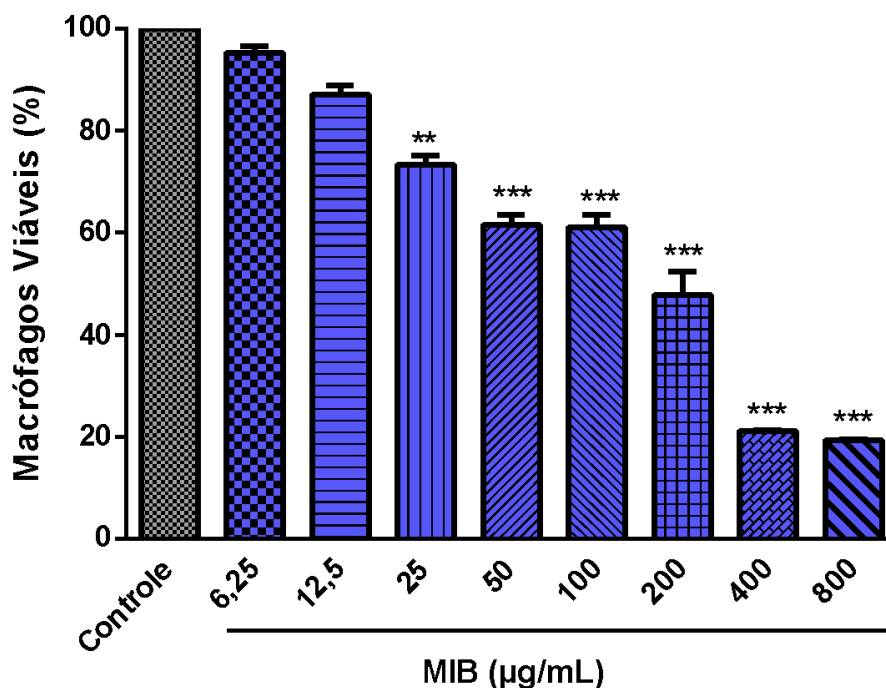
Os valores foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média. As análises estatísticas foram realizadas aplicando-se o teste *t* de Student para amostras não pareadas ou análise de variância (ANOVA) Two-way, seguida do pós-teste de Tukey ou Dunnett para análise de significância entre os grupos. Os valores foram considerados estatisticamente significativos em $p < 0,05$. Para todas as análises estatísticas e plotagem das curvas foi utilizado o programa estatístico GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação toxicológica *in vitro*

Em virtude da relação linear entre atividade celular e absorbância, o crescimento ou taxa de morte de células pode ser mensurado (ATCC, 2011). Assim, na avaliação de um possível efeito citotóxico induzido pela MIB em macrófagos murinos, foi observada uma redução da viabilidade celular por avaliação da atividade mitocondrial de modo dependente de concentração (Figura 4), com valor de concentração citotóxica média (CC_{50}) igual a 124,036 $\mu\text{g/mL}$. Por intermédio de diversos estudos com extratos vegetais, sabe-se que quanto menor o valor do CC_{50} mais citotóxico é o composto avaliado frente à espécie celular empregado (ANDRADE, 2013). Dessa maneira, a MIB foi classificada como moderadamente citotóxico ($100 \mu\text{g/mL} < \text{CC}_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$) em comparação com dados já reportados por Lustosa *et al.* (2016) para o extrato hexânico da semente do bacuri (EHSB) que apresentou valor de CC_{50} igual a 90,030 $\mu\text{g/mL}$.

Figura 4: Efeito citotóxico da MIB sobre macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM. ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparado com o grupo controle.

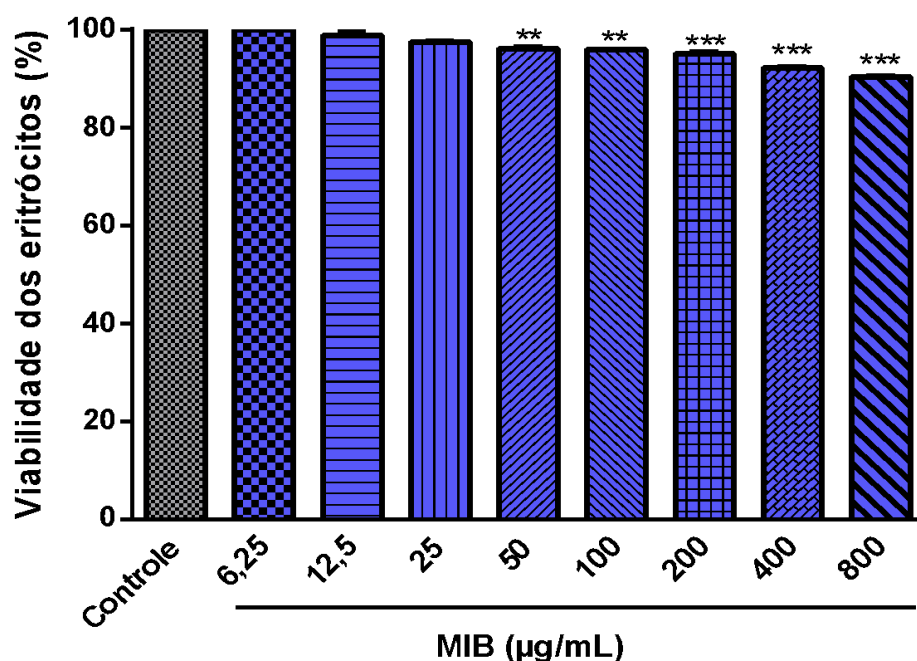


Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

Efeitos citotóxicos de diferentes substâncias podem estar relacionados com irregularidades estruturais na membrana celular (HADNAGY; MARSETZ; IDEL, 2003). No eritrócito, esta é uma estrutura delicada que pode ser danificada por ação de medicamentos (AKI; YAMAMOTO, 1991). Com base neste fato, é possível concluir que a estabilidade mecânica da membrana das hemácias é um critério de avaliação citotóxica de uma droga em desenvolvimento frente às células saudáveis do organismo, sinalizando uma possível toxicidade *in vivo* (AKI; YAMAMOTO, 1991; SILVA, 2007). Segundo os critérios estabelecidos por Nofiani, Kurniadi e Ardiningsih (2011), uma taxa de hemólise superior a 40% é considerada elevada e inferior a 10% é dita baixa. Assim, a MIB apresenta uma baixa citotoxicidade uma vez que ela promoveu menos de 10% de hemólise na concentração mais alta testada (800 µg/mL), não sendo possível determinar a concentração hemolítica média (Figura 5).

Dessa forma, os resultados indicam que a MIB apresenta perfil toxicológico *in vitro* aceitável, permitindo a aplicação de modelos toxicológicos *in vivo* de forma segura para uma avaliação mais profunda sobre seu perfil de segurança, permitindo suas aplicações no desenvolvimento de novos produtos.

Figura 5: Atividade hemolítica da MIB em eritrócitos obtidos de sangue de carneiro. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ quando comparado com grupo controle.



Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

3.2 Avaliação toxicológica in vivo

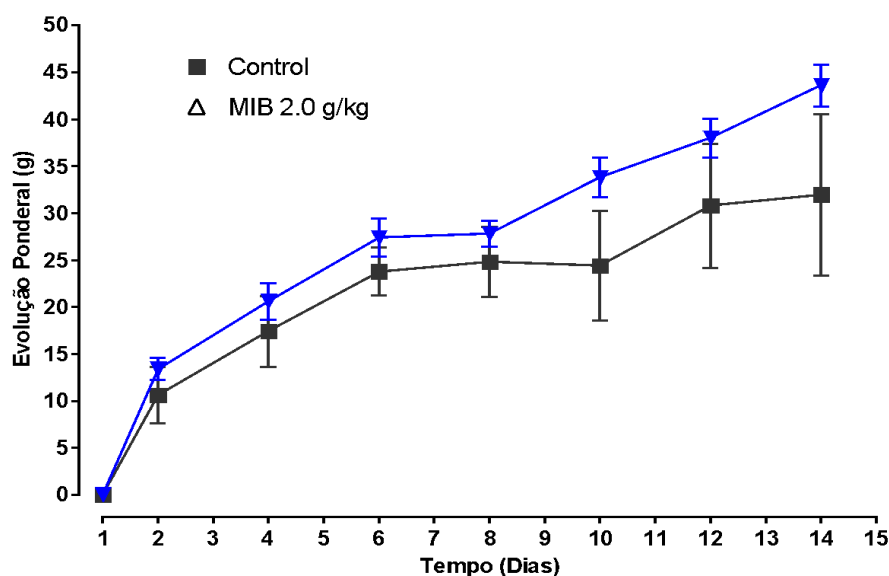
A investigação toxicológica de produtos naturais visa estabelecer uma gama segura e eficaz de doses para novos fármacos e formulações farmacêuticas. No estudo proposto, a MIB não provocou morte durante os quatorze dias de observação após administração oral da dose de 2,0 g/kg em ratas Wistar, indicando ausência de toxicidade para a dose e esquema de administração avaliado. Os animais também não apresentaram qualquer alteração clínica ou comportamental aparente, permanecendo em bom estado até o final do estudo. Logo, não foi possível determinar a DL_{50} para o extrato utilizado, sugerindo classificação na categoria 5 do GHS (OECD, 2002a; 2022b).

O desequilíbrio no desenvolvimento ponderal dos animais em tratamento são sinais de toxicidade sistêmica, uma vez que a perda de peso pode indicar doenças como câncer, distúrbios renais, dor ou estresse. Enquanto isso, o aumento de peso sinaliza distúrbios metabólicos que levam ao aumento do consumo da ração ou formação de grandes tumores (GONZALEZGONZALEZ; SILVA, 2017). No presente estudo, observou-se um ganho de peso significativo ao longo dos 14 dias nos animais que receberam uma dose única da MIB (2,0 g/kg)

em comparação com o grupo controle (Figura 6). No entanto, o ganho de massa ponderal isoladamente não caracteriza um distúrbio, sendo necessário alterações bioquímicas, hematológicas ou histológicas que justifiquem tal achados.

Os testes bioquímicos realizados no sangue dos animais são fundamentais para o diagnóstico de algumas doenças, indicando o órgão e/ou sistema afetado de acordo com os efeitos tóxicos presentes (SOUZA; BIRGEL JÚNIOR; AYRES; BIRGEL, 2004). Quanto às variáveis bioquímicas analisadas (Tabela 1), não foram observadas alterações estatisticamente significativas indicando ausência de dano hepático, renal e metabólico nas doses administradas, indicando ausência de efeitos tóxicos, achados estes, semelhante ao reportado por Lima et al. (2021).

Figura 6: Evolução ponderal em gramas de ratas Wistar tratadas com veículo ou MIB (2,0 g/kg) por via oral. Dados representados por média $\pm$ EPM (n = 5/grupo).



Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

Tabela 1: Avaliação dos parâmetros bioquímicos séricos em ratas Wistar fêmeas tratadas com a MIB por via oral. Os valores representam à média $\pm$ EPM.

Parâmetros	Controle	MIB
Proteínas Totais (mg/dl)	6,96 $\pm$ 0,103	6,40 $\pm$ 0,141
Albumina (mg/dl)	4,02 $\pm$ 0,143	4,16 $\pm$ 0,087
Fosfatase Alcalina (U/L)	214,80 $\pm$ 29,986	138,20 $\pm$ 20,300
ALT (U/L)	59,20 $\pm$ 4,409	58,20 $\pm$ 5,342
AST (U/L)	108,00 $\pm$ 6,790	98,40 $\pm$ 3,696

Bilirrubina Total (mg/dl)	0,10 ± 0,000	0,10 ± 0,000
Bilirrubina Direta (mg/dl)	0,036 ± 0,006	0,036 ± 0,005
Bilirrubina Indireta (mg/dl)	0,064 ± 0,006	0,064 ± 0,005
Creatinina (mg /dl)	0,30 ± 0,032	0,28 ± 0,037
Ácido Úrico (mg/dl)	0,68 ± 0,049	1,12 ± 0,402
Colesterol (mg/dl)	118,50 ± 6,083	105,0 ± 9,000
Triglicerídeos (mg/dl)	98,50 ± 20,857	87,2 ± 13,021
Sódio (mmol/l)	142,00 ± 1,140	140,60 ± 0,600
Potássio (mmol/l)	3,74 ± 0,125	3,82 ± 0,111
Cloro (mmol/l)	101,60 ± 1,364	102,40 ± 0,510

Fonte: Dados da pesquisa, 2022.

Segundo Gonzalez e Silva (2017), outros sinais de toxicidade podem se expressar pela alteração da massa relativa dos órgãos, uma vez que tais parâmetros refletem o funcionamento das principais vias metabólicas do organismo. Dessa forma, alterações de peso de órgãos são frequentemente associadas a efeitos relacionados a tratamento farmacológico. A escolha dos órgãos apropriados para avaliação nos estudos de toxicologia envolve a compreensão do mecanismo de ação da substância-teste, do metabolismo e da toxicocinética;

Sob tal enfoque, a análise macroscópica dos órgãos, assim como o seu peso relativo, após a administração da MIB por via oral não apresentou nenhuma alteração estatisticamente significativa quando comparado com o grupo controle (Tabela 2). Além disso, não foram observadas lesões gástricas em nenhum grupo tratado. De maneira geral, pode-se inferir que a MIB em dose única de 2,0 g/kg administradas por via oral em ratas Wistar não apresentou efeito tóxico.

Tabela 2: Peso médio relativo dos órgãos dos animais após 14 dias do tratamento agudo com veículo ou a MIB por via oral na dose de 2,0 g/kg. Os valores representam à média ± EPM.

Órgãos	Grupos experimentais	
	Controle	MIB
Pulmões	0,652 ± 0,063	0,501 ± 0,021
Fígado	3,745 ± 0,304	3,875 ± 0,192
Coração	0,336 ± 0,007	0,431 ± 0,100
Estômago	0,701 ± 0,037	0,740 ± 0,042
Cérebro	0,814 ± 0,030	0,821 ± 0,035

Rim Direito	0,363 ± 0,010	0,359 ± 0,011
Rim Esquerdo	0,349 ± 0,010	0,344 ± 0,075

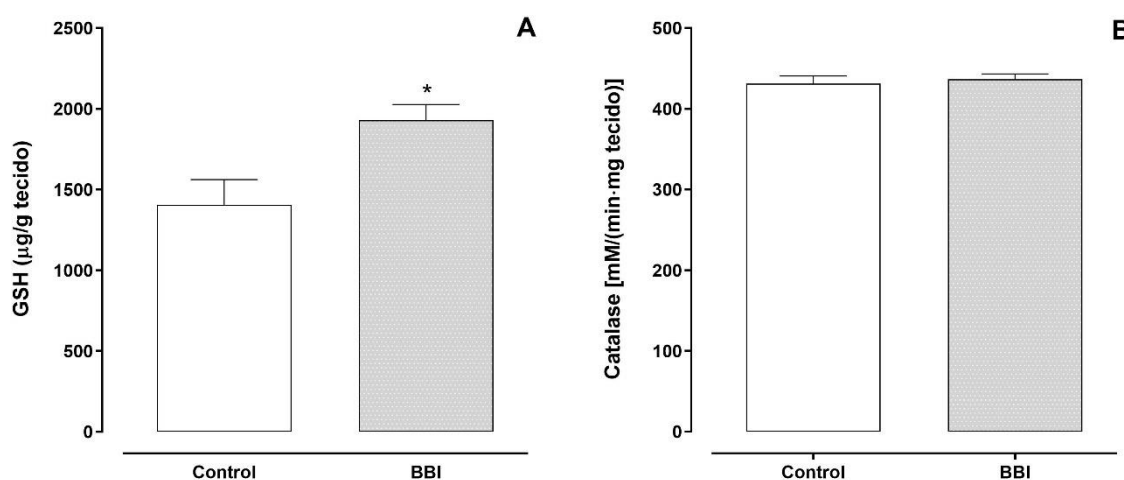
Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

3.3 Avaliação de dano oxidativo

O fígado é o principal órgão responsável pelo metabolismo dos xenobióticos. Na maioria dos casos, o processo metabólico é realizado sem nenhum dano ao fígado. No entanto, muitos compostos são tóxicos e produzem metabólitos que podem causar danos oxidativos ao órgão (SIVAPRASAD; NAGARAJ; VARALAKSHMI, 2005; JURCZUK; MONIUSKO-JAKONIUK; BRZOSKA, 2007). A fim de investigar o estresse oxidativo induzido pela MIB, a atividade de sistemas antioxidantes como catalase e glutathiona reduzida (GSH) foram avaliadas em homogenatos do fígado. Neste estudo, não foram observadas diferenças significativas nos níveis de catalase entre os grupos tratados com MIB e o controle (Figura 7). No entanto, houve um aumento significativo nos níveis de GSH no grupo tratado com MIB (Figura 8).

Assim, os níveis aumentados de GSH observados no grupo tratado com MIB em relação ao controle (veículo) representam um forte indicativo da atividade antioxidante e hepatoprotetora desta manteiga, dados que corroboram com o descrito por Lima *et al.* (2021) e Lindoso *et al.* (2022), onde os níveis de GSH apresentaram-se aumentados após tratamento oral com a MIB por 28 dias em modelos experimentais de diabetes (LINDOSO *et al.*, 2022) e dislipidemia (LIMA *et al.*, 2021).

Figura 7: Níveis de GSH e atividade catalase nos tecidos hepáticos após 14 dias de tratamento agudo com veículo e MIB agudo (2,0 g/kg).



Fonte: Dados da Pesquisa, 2022.

4 CONCLUSÃO

Mediante os resultados obtidos, é possível inferir que a MIB apresenta baixa toxicidade frente às linhagens celulares estudadas, macrófagos peritoneais e membranas eritrocitárias. Quanto aos ensaios *in vivo*, não se registrou nenhum tipo de sinal toxicológico após tratamento oral agudo em ratos para a MIB, demonstrando assim um perfil satisfatório de segurança. Assim, o presente estudo abre perspectivas para estudos de prova de conceito não-clínica com o extrato da *P. insignis*, visando o desenvolvimento de novos produtos com diversas aplicações farmacológicas e terapêuticas.

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/mK3xKRWQ5tK6WHBKJKGGpxD/>. Acesso em: 20 mar. 2022.
- AKERBOOM, T. P.; SIES, H.; Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. **Methods in Enzymology**, v. 77, p. 373-382. 1981. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7329314/>. Acesso em: 12 mar. 2022.
- AKI, H.; YAMAMOTO, M. Drug binding to human erythrocytes in the process of ionic drug-induced hemolysis. **Biochemical Pharmacology**, v. 41, n. 1, p. 133-138, 1991. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1986737/>. Acesso em: 10 mar. 2022.
- ALVES, M. M. M.; BRITO, L. M.; SOUZA, A. C.; QUEIROZ, B. C. S. H.; CARVALHO, T. P.; BATISTA, J. F.; OLIVEIRA, J. S. S. M.; MENDONÇA, I. L.; LIRA, S. R. S.; CHAVES, M. H.; GONÇALVES, J. C. R.; CARNEIRO, S. M. P.; ARCANJO, D. D. R.; CARVALHO, F. A. A. Gallic and ellagic acids: two natural immunomodulator compounds solve infection of macrophages by *Leishmania major*. **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology**, v. 390, p. 893-903, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28643086/>. Acesso em: 20 mar. 2022.
- ANDRADE, M. A. **Óleos essenciais de *Cinnamodendron dinisii* Schwacke e *Siparuna guianensis* Aublet**: composição química, caracterização das estruturas secretoras e avaliação do potencial biológico. 2013. 227 f. Tese (Doutorado em Agroquímica), Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras – MG, 2013. Disponível em: <http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/773>. Acesso em: 12 mar. 2022.
- ATCC. “American Type Culture Collection”. **MTT Cell Proliferation Assay**. Instructions. [S. l.], 2011. Disponível em: <https://www.atcc.org/products/30-1010k>. Acesso em: 20 mar. 2022.

ARCANJO, D. D. R.; DA COSTA, J. S.; MOURA, L. H. P.; FERRAZ, A. B. F.; ROSSATTO, R. R.; DAVID, J. M.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; DE CÁSSIA MENESES OLIVEIRA, R.; CITÓ, A. M. D. G. L.; DE OLIVEIRA, A. P. Garcinielliptone FC, a polyisoprenylated benzophenone from *Platonia insignis* Mart., promotes vasorelaxant effect on rat mesenteric artery. **Natural Product Research**, v. 28, n. 12, p. 923-7, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24579922/>. Acesso em: 10 mar. 2022.

BEERS, R. F.; SIZER, I. W. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal Biological Chemistry**, v. 195, p. 133-140, 1951. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002192581950881X>. Acesso em: 10 mar. 2022.

BEZERRA, É. A.; ALVES, M. M. M.; AMORIM, L. V.; CARVALHO, R. C. V.; CRUZ, L. P. L.; COSTA-JÚNIOR, J. S.; OLIVEIRA, M. D. D. A.; LIMA NETO, J. S.; CARVALHO, F. A. A.; CITÓ, A. M. D. G. L.; ARCANJO, D. D. R.; GARCINIELLIPTONE FC: Selective anti-amastigote and immunomodulatory effects on macrophages infected by *Leishmania amazonensis*. **Toxicology in vitro**, v. 63, p. 104750, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0887233318306659?via%3Dihub>. Acesso em: 15 mar. 2022.

BEZERRA, É. A.; ALVES, M. M. DE M.; LIMA, S. K. R.; PINHEIRO, E. E. A.; AMORIM, L. V.; LIMA NETO, J. DE S.; CARVALHO, F. A. DE A.; CITÓ, A. M. DAS G. L.; ARCANJO, D. D. R. Biflavones from *Platonia insignis* Mart. flowers promote in vitro antileishmanial and immunomodulatory effects against internalized amastigote forms of *Leishmania amazonensis*. **Pathogens**, v. 10, n. 9, p. 1166, 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-0817/10/9/1166>. Acesso em: 15 mar. 2022.

CAVALCANTE, A. N.; LIMA, L. K. F.; ARAÚJO, C. M.; SANTOS, F. P. S.; DO NASCIMENTO, M. O.; SOUSA, J. M. C.; RAI, M.; FEITOSA, C. M. Toxicity, cytotoxicity, mutagenicity and in vitro antioxidant models of 2-oleyl-1,3-dipalmitoyl-glycerol isolated from the hexane extract of *Platonia insignis* Mart. seeds. **Toxicology Reports**, 7, 209-216, 2020. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750019300861>. Acesso em: 20 mar. 2022.

CHING J. C.; BEUTLER, E. Purification and characterization of human erythrocyte pyridoxine kinase. **Clinica Chimica Acta**, v. 61, n. 3, p. 353-365, 1975. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(75\)90425-8](https://doi.org/10.1016/0009-8981(75)90425-8)

COSTA JÚNIOR, J. S.; ALMEIDA, A. A. C.; FERRAZ, A. DE B. F.; ROSSATTO, R. R.; SILVA, T. G.; SILVA, P. B. N.; MILITÃO, G. C. G.; CITÓ, A. M. DAS G. L.; SANTANA, L. C. L. R.; CARVALHO, F. A. DE A.; FREITAS, R. M. Cytotoxic and leishmanicidal properties of Garcinielliptone FC, a prenylated benzophenone from *Platonia insignis*. **Natural Product Research**, v. 27, n. 4-5, p. 470-474, 2013a. <https://doi.org/10.1080/14786419.2012.695363>

COSTA JÚNIOR, J. S.; FERRAZ, A. B. F.; SOUSA, T. O.; SILVA, R. A. C.; DE LIMA, S. G.; FEITOSA, C. M.; CITÓ, A. M. G. L.; MELO CAVALCANTE, A. A. C.; FREITAS, R. M.; MOURA SPEROTTO, A. R.; PÉRES, V. F.; MOURA, D. J.; SAFFI, J. Investigation of

biological activities of dichloromethane and ethyl acetate fractions of *Platonia insignis* Mart. Seed. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, v. 112, n. 1, p. 34–41, 2013b. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1742-7843.2012.00924.x>. Acesso em: 20 mar. 2022.

COSTA JÚNIOR, J.S.; ALMEIDA, A. A.; TOMÉ, A. DA R.; CITÓ, A. M. G. L.; SAFFI, J.; DE FREITAS, R. M. Evaluation of possible antioxidant and anticonvulsant effects of the ethyl acetate fraction from *Platonia insignis* Mart. (Bacuri) on epilepsy models. **Epilepsy & Behavior**, v. 22, n. 4, p. 678-684, 2011.

FERNANDES, H. B.; SILVA, F.V.; FREITAS, F. F. B. P.; BEZERRA, R. D. S.; CHAVES, M. H.; OLIVEIRA, F. A.; OLIVEIRA, R. C. M. Gastroprotective effect of the ethanolic extract of *Parkia platycephala* Benth. Leaves against acute gastric lesion models in rodents. **Biological Research**, v. 43, p. 451-457, 2010. Disponível em: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-97602010000400010. Acesso em: 12 mar. 2022.

GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução a Bioquímica Clínica Veterinária**. 3. ed. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul., 2017. Disponível em: https://www.ufrgs.br/lacvet/site/wp-content/uploads/2022/07/Intro_Bioq_Clin_Vet3.ed-2017.pdf. Acesso em: 26 jun. 2023.

HADNAGY, W.; MARSETZ, B.; IDEL, H. Hemolytic activity of crystalline silica-separated erythrocytes versus whole blood. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 206, n. 2, p. 103-107, 2003. <https://doi.org/10.1078/1438-4639-00200>.

HIDALGO, P. S. P.; NUNOMURA, R. C. S.; NUNOMURA, S. M. Plantas Oleaginosas Amazônicas: Química e Atividade Antioxidante de Patauá (*Oenocarpus bataua* Mart.). **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 130-140, 2016. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/1480/715>. Acesso em: 20 mar. 2022.

JURCZUK, M.; MONIUSKO-JAKONIUK, J.; BRZOSKA, M.M. Hepatic and renal concentrations of vitamins E and C in lead- and ethanol-exposed rats. An assessment of their involvement in the mechanisms of peroxidative damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 1478-1486, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S027869150700066X>. Acesso em: 20 mar. 2022.

LIMA, G. D. M.; BRITO, A. K. D. S.; FARIAS, L. M. DE; RODRIGUES, L. A. R. L.; PEREIRA, C. F. D. C.; LIMA, S. K. R.; FROTA, K. D. M. E. G.; RIZZO, M. D. S.; NUNES, P. H. M.; LUCARINI, M.; DURAZZO, A.; ARCANJO, D. D. R.; MARTINS, M. D. C. D. C. E. Effects of “bacuri” seed butter (*Platonia insignis* Mart.) on metabolic parameters in hamsters with diet-induced hypercholesterolemia. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2021, e5584965, p. 1-8, 2021. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2021/5584965/>. Acesso em: 10 mar. 2022.

LINDOSO, J. V. DOS S.; ALENCAR, S. R.; SANTOS, A. A.; DOS, MELLO NETO, R. S.; MENDES, A. V. DA S.; FURTADO, M. M.; SILVA, M. G. DA.; BRITO, A. K. DA S.; BATISTA, E. K. F.; BAÊTA, S. DE A. F.; MOREIRA NUNES, P. H.; LUCARINI, M.;

DURAZZO, A.; ARCANJO, D. D. R.; MARTINS, M. C. C. E. Effects of “Bacuri” seed butter (*Platonia insignis* Mart.), a Brazilian Amazon fruit, on oxidative stress and diabetes mellitus-related parameters in STZ-diabetic rats. **Biology**, v. 11, n. 4, p. 562, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9028263/>. Acesso em: 15 de nov. 2022

LUSTOSA, A. K. M. F.; ARCANJO, D. D. R.; RIBEIRO, R. G.; RODRIGUES, K. A. F.; PASSOS, F. F. B.; PIAULINO, C. A.; SILVA-FILHO, J. C.; ARAÚJO, B. Q.; LIMA-NETO, J. S.; COSTA-JÚNIOR, J. S.; CARVALHO, F. A. A.; CITÓ, A. M. DAS G. L. Immunomodulatory and toxicological evaluation of the fruit seeds from *Platonia insignis*, a native species from Brazilian Amazon Rainforest. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 26, n. 1, p. 77-82, 2016. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1016/j.bjp.2015.05.014.pdf>. Acesso em: 10 mar. 2022.

LUSTOSA, A. K. M. F.; BEZERRA, É. A. B.; RODRIGUES, K. A. DA F. R.; AMORIM, L. V. A.; LIMA NETO, J. DE S. Antileishmanial effect of fruit seeds from *Platonia insignis* against macrophage- internalized amastigote forms of *Leishmania amazonensis*. **Revista Cubana de Plantas**, v. 2, p. 1-14, 2018. Disponível em: <https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/639/307>. Acesso em: 20 mar. 2022.

LUSTOSA, A. K. M. F.; SILVA, F.V.; SILVA, E. R. S.; MENDES, A. N.; SOUSA, L. R.; CARVALHO, A. L. M.; OLIVEIRA, R. C. M.; CARVALHO, F. A. A.; ARCANJO, D. D. R.; CITÓ, A. M. G. L. Lecithin-based organogel for an industrialized butter from *Platonia insignis* Mart. seeds and its anti- inflammatory potential: formulation and preclinical studies. **Journal of Global Innovation**, v. 2, n. 1, p. 1-6, 2020. Disponível em: [https://bioprospectum.com/jgi/files/articles/\(1\)jgi-010---editado-jgi.pdf](https://bioprospectum.com/jgi/files/articles/(1)jgi-010---editado-jgi.pdf). Acesso em: 12 mar. 2022.

LUSTOSA, A. K. M. F.; COELHO, A. G.; SANTOS, A. A. dos; BARROS, Y. S. O.; RODRIGUES, K. A. da F.; AMORIM, L. V.; ALVES, M. M. de M.; CARVALHO, A. L. M.; MENDES, A. N.; CARVALHO, F. A. A.; ARCANJO, D. D. R.; CITÓ, A. M. das G. L. Topical formulations based on seeds butter from *Platonia insignis* Mart. for the treatment of injuries related to experimental cutaneous leishmaniasis. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e52310413665, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/13665/12960>. Acesso em 12 mar. 2022.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. Disponível em: https://e-tarjome.com/storage/btn_uploaded/2019-07-16/1563261481_9720-etarjome-English.pdf. Acesso em 20 mar. 2022.

NASCIMENTO, J. L.; COELHO, A. G.; BARROS, Y. S. O.; OLIVEIRA, I. S.; SILVA, F. V.; VIANA, A. F. S. C.; ARAÚJO, B. Q.; ROCHA, M. S.; ANDRADE, F. C. P.; BARBOSA, C. O.; FERNANDES, H. B.; MENDES, A. N.; COSTA-JÚNIOR, J. S.; OLIVEIRA, R. C. M.; LUCARINI, M.; DURAZZO, A.; ARCANJO, D. D. R.; CITÓ, A. M. G. L. Production and characterization of a β -Cyclodextrin inclusion complex with *Platonia insignis* seed extract as a proposal for a gastroprotective system. **Applied Sciences**, v. 13, p. 58, 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3417/13/1/58>. Acesso em: 15 fev. 2023.

NASCIMENTO, J. L.; COELHO, A. G.; BARROS, Y. S. O.; SILVA, O. A.; MENDES FREITAS, R. M.; ROCHA, M. S.; DAVID, J. M.; COSTA JÚNIOR, J. S.; ARCANJO, D. D. R.; OLIVEIRA, R. C. M. O.; CITÓ, A. M. G. L. Avaliação da atividade antioxidante in vitro do extrato hexânico da semente do bacuri (*Platonia insignis* Mart.) e de seu complexo de inclusão com β - ciclodextrina. **Boletim Informativo Geum**, v. 5, n. 2, p. 44-53, 2014. Disponível em: <https://revistas.ufpi.br/index.php/geum/article/view/2460/1992>. Acesso em: 10 mar. 2022.

NOFIANI, R.; KURNIADI, R.; ARDININGSIH, P. Antimicrobial, antioxidant, hemolytic activities and toxicity of ethyl acetate extract from an unidentified coral-associated fungus, *Aspergillus brevipes* RK06. **Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention**, v. 2, n. 2, p. 212, 2011. Disponível em: <https://ijcc.chemoprev.org/index.php/ijcc/article/view/33>. Acesso em: 12 mar. 2022.

OECD, Test No. 423: Acute Oral toxicity - Acute Toxic Class Method. Paris: OECD Publishing, 2002a. <http://dx.doi.org/10.1787/9789264071001-en>.

OECD. OECD Series on Testing and Assessment, No. 19. OECD Publishing, Paris, 2002b. <http://dx.doi.org/10.1787/9789264078376-en>.

OECD. Guidance document on the recognition, assessment and use of clinical signs as human endpoints for experimental animals used in safety evaluation. OECD Series on testing and assessment. Paris: OECD Publishing, 2002c. p. 39. <https://doi.org/10.1787/9789264078376-en>.

OSÓRIO, A. T.; BEZERRA, É. A.; PINHEIRO, E. E. A.; FURTADO, M. M.; SILVA, M. G.; BRITO, A. K. S.; BEZERRA, I. B. M.; MORAIS, I. C. P. S.; LIMA NETO, J. S.; FERREIRA, P. M. P.; CITÓ, A. M. G. L.; ARCANJO, D. D. R. Cardiovascular and antioxidant effects of bacuri flower extract (*Platonia Insignis* Mart.) in rats. In: CASTRO, L. H. A.; PEREIRA, T. T.; MORETO, F. V. C. (Org.). **Propostas, Recursos e Resultados nas Ciências da Saúde**. Ponta Grossa, PR: Atena, 2020, p. 110-127. Disponível em: <https://www.atenaeditora.com.br/catalogo/post/efeitos-cardiovasculares-e-antioxidantes-do-extrato-das-flores-do-bacurizeiro-platonia-insignis-mart-em-ratas>. Acesso em: 20 mar. 2022.

RODRIGUES, K. A.; AMORIM, L. V.; DIAS, C. N.; MORAES, D. F.; CARNEIRO, S. M.; CARVALHO, F. A. *Syzygium cumini* (L.) skeels essential oil and its major constituent α -pinene exhibit anti-*Leishmania* activity through immunomodulation in vitro. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, p. 32-40, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.024>.

SERAFINI, M. R.; SANTOS, R. C.; GUIMARÃES, A. G.; DOS SANTOS, J. P.; DA CONCEIÇÃO SANTOS, A. D.; ALVES, I. A.; GELAIN, D. P.; DE LIMA NOGUEIRA, P. C.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; BONJARDIM, L. R.; DE SOUZA ARAÚJO, A. A. *Morinda citrifolia* Linn. leaf extract possesses antioxidant activities and reduces nociceptive behavior and leukocyte migration. **Journal of Medicinal Food**, v. 14, n. 10, p. 1159-1166, 2011. Disponível em: <https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/594/1/MorindaCitrifoliaAntioxidant.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2023.

SILVA, M. V. B. **Avaliação da citotoxicidade e indução de diferenciação e apoptose por diterpenos de *Xylopia langsdorffiana* St.-Hil. & Tul (*Annonaceae*)**. 2007. 104 f. Tese

(Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2007. Disponível em: http://www.dominiopublico.gov.br/pesquisa/DetalheObraForm.do?select_action=&co_obra=149846. Acesso em: 23 jun. 2023.

SILVA, M. G. **Efeitos sobre perfil antioxidante e reatividade vascular induzidos por uma manteiga obtida das sementes de *Platonia insignis* Mart. Em modelo de hipertensão L-NAME em ratas.** 2019. 80 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, Universidade Federal do Piauí-UFPI. Parnaíba-PI, 2019.

SILVA, M. G. FURTADO, M. M., OSÓRIO, A. T., MORAIS, I. C. P. S., AMARAL, M. P. M., COELHO, A. G., ARCANJO, D. D. R. A importância dos ensaios de toxicidade para o desenvolvimento e o registro de fitoterápicos no Brasil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, e538101220137, p. 1-10, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/20137>. Acesso em: 10 mar. 2022.

SILVA, A.; MOREIRA, R.; SOUSA, R.; FILHO, E.; VERAS, M.; CHAVES, M.; FREITAS, S. Chemical composition and photoprotective and antiradical activities of the branches of *Platonia insignis* (Clusiaceae). **Química Nova**, v. 4, n. 8, 1-9, 2021. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170761>.

SIVAPRASAD, R.; NAGARAJ, M.; VARALAKSHMI, P. Combined efficacies of lipoic acid and 2, 3-dimercaptosuccinic acid against lead-induced lipid peroxidation in rat liver. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 15, n. 1, p. 18-23, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0955286303001517>. Acesso em: 10 mar. 2022.

SOUZA, R. M.; BIRGEL JÚNIOR, E. H.; AYRES, M. C. C.; BIRGEL, E. H.; Influência dos fatores raciais na função hepática de bovinos da raça Holandesa e Jersey. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 306-312, 2004. <https://doi.org/10.1590/S1413-95962004000500003>.