

## Efeitos de extratos aquosos de *Caryocar brasiliense* em camundongos\*

Effects of Aqueous Extracts of *Caryocar brasiliense* in Mice

Leydiana Duarte Fonseca<sup>1</sup>, Gabriela Almeida Bastos<sup>2</sup>, Marco Aurélio Morais Soares Costa<sup>3</sup>, Adriano Vinicius de Paiva Ferreira<sup>4</sup>, Maria Luiza França Silva<sup>5</sup>, Thallyta Maria Vieira<sup>6</sup>, Franciellen Morais-Costa<sup>7</sup>, Neide Judith Faria de Oliveira<sup>2</sup> & Eduardo Robson Duarte<sup>2</sup>

### ABSTRACT

**Background:** *Caryocar brasiliense* Cambess (Caryocaraceae) is an arboreal plant native of Brazilian Cerrado and its fruit is an important source of food and income for the human population of this region. In addition to using as food, different parts of this tree have great medicinal potential as antimicrobial, anti-inflammatory, antioxidant and antihelmintic. However, the active metabolites those are likely to confer these pharmacological properties healing may also be toxic dependent upon the dose and route of administration. In this quest, the aim of this study was to assess the acute toxicity of aqueous extracts of fruit peels and leaves of *C. brasiliense* in mice of both genders.

**Materials, Methods & Results:** The aqueous extracts were obtained by decoction, diluted in water and filtered through membrane. The toxicity of extract of fruit peels (62.5 at 500 mg/kg of body weight (BW) and leaf extract (18.75 mg/kg bw) were evaluated in males and females mice (*Mus musculus*) Swiss by intraperitoneal route. For 2 control groups were administered injection water. The clinical signs and deaths were recorded up to 14 days after administration. The lethal doses for 10 (LD<sub>10</sub>) or 50 (LD<sub>50</sub>) % of population were estimated with Probit regression analysis. The Chi-square test was used to analyze differences of mortality frequencies between males and females. The groups treated with the two lower doses of both extracts completely abolished the clinical alteration between two and four hours after inoculation. The compartment of control group's animals was normalized immediately after administration of injection water. The higher dose administered in both experiments were lethal for all animals, but the doses 250 mg/kg BW of fruit peels extract and 150 mg/kg of BW of leaves extract caused mortality of 100% just in males. However, in both experiments there were no significant differences between the mortality frequency for groups of male and female, as well the compartment of these animals when these doses were administered. Dose-dependent response was observed to mortality. The LD<sub>10</sub> corresponded to 89.6 mg/kg BW and LD<sub>50</sub> was 149.8 mg/kg BW for fruit peel extract. For the leaf extract, LD<sub>10</sub> and LD<sub>50</sub> were 33.35 and 67.01 mg/kg<sup>BW</sup>, respectively.

**Discussion:** Aqueous extracts of the fruit peels and leaves of *C. brasiliense* were classified as very toxic since the LD50 ranged from 50 to 500 mg / kg BW. For both extracts, similar behavioral changes were observed. Among the secondary metabolites present in fruit peel and leaves, saponins and tannins can promote nervous symptoms. Although there are no records in the literature about animals and human orally intoxicated with any part of *C. brasiliense*, the development of specific studies to determine its toxicity is relevant, considering the social and ecological importance of this plant.

**Keywords:** *Caryocar brasiliense*, *Mus musculus*, Cerrado, intraperitoneal route, toxicidade

**Descritores:** *Caryocar brasiliense*, *Mus musculus*, Cerrado, via intraperitoneal, toxicidade

DOI: 10.22456/1679-9216.80935

Received: 25 September 2015

Accepted: 9 May 2016

Published: 28 May 2016

\*Article based on a Thesis submitted by the senior author in partial fulfillment of requirements for a Master of Science degree at Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil. <sup>1</sup>Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo (FZEA-USP), Pirassununga, SP, Brazil. <sup>2</sup>Instituto de Ciências Agrárias (ICA-UFMG), Montes Claros, MG. <sup>3</sup>Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, SP. <sup>4</sup>Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG. <sup>5</sup>Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Itapetinga, BA, Brasil. <sup>6</sup>Instituto de Ciências Biológicas (ICB-UFMG), Belo Horizonte, MG. <sup>7</sup>UFMG, Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros, MG. CORRESPONDENCE: E.R. Duarte [duartevet@hotmail.com - Tel.: +55 (38) 2101-7707]. Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Universitária n° 1000, Bairro Universitário, CEP 39400-006 Montes Claros, MG, Brazil.

## INTRODUÇÃO

*Caryocar brasiliense* Cambess (Caryocaraceae), pequi, é uma árvore com ampla distribuição no Cerrado brasileiro [13]. Possui grande importância socioeconômica, uma vez que os frutos, pequi, são explorados de forma extrativista por populações inseridas nesse bioma, constituindo em fonte de alimentação e renda, além de ser utilizada na agroindústria, na fabricação de cosméticos e na medicina popular [5].

Diversas pesquisas têm reportado o potencial alelopático, antifúngico, leishmanicida, bactericida, moluscicida, antioxidante, antiinflamatório e hipotensivo do pequi [6,14,16,17,21-23]. A atividade terapêutica das plantas está relacionada, principalmente, aos metabólitos secundários, destinados à proteção contra herbivoria [7]. Entretanto, além da capacidade de cura, podem ser potencialmente tóxicos, dependendo da dosagem e da forma de administração. Mesmo com a ampla utilização do fruto na alimentação humana e dos relatos de utilização na alimentação animal, apenas uma pesquisa avaliou a toxicidade dessa espécie vegetal, revelando que o extrato hidroalcoólico do farelo da casca do fruto apresentou toxicidade em camundongos por via intraperitoneal [4]. Apesar de não terem sido verificados outros registros na literatura sobre a intoxicação de animais e seres humanos com *C. brasiliense*, estudos para determinar a toxicidade são imprescindíveis, considerando suas potencialidades farmacêuticas e na alimentação. Dessa forma, avaliou-se a toxicidade aguda do extrato aquoso das cascas dos frutos e das folhas do pequi em camundongos de ambos os sexos por via intraperitoneal.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Seleção das amostras vegetais*

Foram utilizadas cascas do fruto, compostas por epicarpo e por mesocarpo externo, e folhas de *C. brasiliense* Cambess coletadas em regiões de cerrado do norte de Minas Gerais. As amostras foram identificadas e armazenadas em exsicata nº 338, no Herbário Montes Claros, localizado na Universidade Estadual de Montes Claros. Amostras lesionadas ou deterioradas foram descartadas e posteriormente, para os materiais selecionados, procederam-se à lavagem e à sanitização com solução de hipoclorito de sódio, na concentração de 2% (v/v), por 15 min [27].

### *Obtenção dos extratos aquosos*

Para a produção dos extratos aquosos, as cascas dos frutos e folhas foram desidratadas em estufa, com circulação forçada de ar a 40°C até obter peso constante. Posteriormente, foram trituradas, identificadas e armazenadas em freezer a 4°C negativos. Esses materiais foram suspensos em água destilada estéril, homogeneizados e incubados em banho-maria a 60°C, durante 60 min. Procederam-se à filtração dos extratos aquosos em funil com algodão e à distribuição em placas de *Petri* para a desidratação em estufa, com circulação forçada de ar, a 40°C [12,18].

Os pós dos extratos aquosos obtidos foram diluídos em água para injetáveis e filtrados em membrana filtrante *Millipore*<sup>1</sup> com porosidade de 22 µm, com o auxílio de bomba a vácuo, em capela de fluxo laminar, para evitar contaminação. A matéria seca de subamostras dos extratos diluídos e filtrados foi determinada em estufa a 105°C.

### *Teste de toxicidade aguda por via intraperitoneal*

Os procedimentos adotados nos testes de toxicidade aguda foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG, conforme o registro 42/2008. Para a avaliação da toxicidade aguda, utilizou-se metodologia adaptada de Tahraoui *et al.* [28]. Os experimentos foram realizados em tempos diferentes, permitindo o melhor acompanhamento dos animais. Em ambos os experimentos foram utilizados camundongos adultos jovens, com idade aproximada de sete semanas, albino (*Mus musculus*) linhagem Swiss.

Inicialmente, realizou-se o teste de toxicidade aguda do extrato aquoso das cascas do fruto, por via intraperitoneal, nas doses 500,00; 250,00; 125,00 e 62,50 mg/kg de peso corporal (PC), comparando-se com o controle que recebeu 1 mL de água para injetáveis. Foram utilizados 4 animais fêmeas, com média de peso de 43,20 g e 4 machos, com média de peso de 49,12 g por grupo.

No segundo experimento, procedeu-se ao teste de toxicidade do extrato aquoso das folhas de pequi, analisando-se as doses 300,00; 150,00; 75,00; 37,50 e 18,75 mg/kg PC. Foram utilizados seis camundongos fêmeas, com média de peso de 39,50 g, e seis machos, com média de peso de 44,82 g, para cada dosagem e controle, inoculado com 1 mL de água para injetáveis.

Foi realizada aplicação em dose única, em função do peso individual e respeitando-se a capacidade de volume intraperitoneal. Os animais foram separados por tratamento e acondicionados em gaiolas plásticas com tampa de inox, forradas com maravalha. Durante todo período experimental, forneceram-se água e ração comercial Labina®<sup>2</sup> *ad libitum*.

O comportamento e a mortalidade foram observados nos tempos 5, 10, 30, 60 min, 4 e 8 h após a aplicação. Posteriormente, verificaram-se os mesmos parâmetros a cada 24 h até o 14 dia, quando os últimos sobreviventes e o controle foram eutanasiados por sangria sob anestesia com solução de xilasina e quetamina.

#### Análise estatística

Para determinar as doses letais para 10% e 50% da população (DL<sub>10</sub> e DL<sub>50</sub>), foi empregada a análise de regressão *Probit* do programa estatístico *Saeg*®

9.1 [24]. As frequências de mortalidade de fêmeas e machos nos dois experimentos foram ainda submetidas ao teste Qui-quadrado, para observar diferenças entre os sexos.

### RESULTADOS

A maior dose do extrato aquoso das cascas do fruto do pequi provocou 100% de mortalidade nas fêmeas, enquanto, nos machos, 100% de mortalidade ocorreram nos grupos que receberam as duas maiores dosagens. Para ambos os sexos, os primeiros óbitos foram observados 4 h após a aplicação. O extrato aquoso das folhas do pequi provocou 100% de mortalidade para as fêmeas, na maior dose, enquanto, nos machos, 100% de mortalidade ocorreram nas dosagens de 300 e 150 mg/kg PC, sendo que os primeiros óbitos foram registrados 24 h após aplicação (Tabela 1).

**Tabela 1.** Período de ocorrência de mortalidade após aplicação, mortalidade em número absoluto e relativo, em função das diferentes doses do extrato aquoso das cascas e folhas do fruto de *Caryocar brasiliense* Camb. em camundongos fêmeas e machos.

| Extrato        | Camundongos Fêmeas |             |   |      | Camundongos Machos |             |   |     |
|----------------|--------------------|-------------|---|------|--------------------|-------------|---|-----|
|                | Dose <sup>a</sup>  | Mortalidade |   |      | Dose <sup>a</sup>  | Mortalidade |   |     |
|                |                    | Período     | n | %    |                    | Período     | n | %   |
| Casca do fruto | 500,00             | 4 h         | 4 | 100  | 500,00             | 4-8 h       | 4 | 100 |
|                | 250,00             | 24-48 h     | 3 | 75   | 250,00             | 48-72 h     | 4 | 100 |
|                | 125,00             | 72 h        | 2 | 50   | 125,00             | 48 h        | 1 | 25  |
|                | 65,50              | ..          | 0 | 0    | 65,50              | ..          | 0 | 0   |
|                | 0,0                | ..          | 0 | 0    | 0,0                | ..          | 0 | 0   |
| Folhas         | 300,00             | 24 h        | 6 | 100  | 300,00             | 24-48 h     | 6 | 100 |
|                | 150,00             | 24-48 h     | 5 | 83,3 | 150,00             | 24-48 h     | 6 | 100 |
|                | 75,00              | 48 h        | 4 | 66,7 | 75,00              | 48 h-6d     | 3 | 50  |
|                | 37,50              | 96 h        | 2 | 33,3 | 37,50              | ..          | 0 | -   |
|                | 18,75              | ..          | 0 | -    | 18,75              | ..          | 0 | -   |
|                | 0,0                | ..          | 0 | 0    | 0,0                | ..          | 0 | 0   |

<sup>a</sup>Dose (mg/kgde peso corporal), h= horas, n = número absoluto, % = número relativo, d = dia.

Em ambos os experimentos, não houve diferença significativa entre as frequências de mortalidade de fêmeas e machos. Nos dois experimentos, a resposta foi dose dependente, ocorrendo aumento da mortalidade, com elevação progressiva da concentração dos extratos. As DL<sub>10</sub> e DL<sub>50</sub> obtidas para o extrato aquoso das cascas do fruto do pequi foram, respectivamente, de 89,6 mg/kg PC (intervalo de confiança a 95% = 78,08 - 99,54 mg/kg PC) e 149,8 mg/kg PC (intervalo de confiança a 95% = 138,52 - 161,95 mg/kg PC). Para o extrato

aquoso das folhas, obtiveram-se, respectivamente, as DL<sub>10</sub> e DL<sub>50</sub> de 33,35 mg/kg PC (intervalo de confiança a 95% = 28,5 - 37,78 mg/kg PC) e 67,01 mg/kg PC (intervalo de confiança a 95% = 61,20 - 73,38 mg/kg PC).

O comportamento dos camundongos observado nos experimentos foi semelhante entre fêmeas e machos. Logo após a aplicação, houve aumento da frequência respiratória e reação de fuga para todos os tratamentos, mesmo após cessarem esses sinais nos grupos controle. As doses de 500 e 250 mg/kg PC do

extrato aquoso das cascas do fruto e 300, 150 e 75 mg/kg PC e folhas de pequi determinaram dificuldade de locomoção e incoordenação motora até o óbito. Aos 10 min após, os sintomas mais observados para essas dosagens foram dispneia e prostração.

Os grupos que foram tratados com as duas menores dosagens dos extratos da casca do fruto e das folhas do pequi aboliram os sintomas totalmente entre duas e quatro horas após a inoculação, respectivamente. Os animais do grupo controle normalizaram o comportamento cinco minutos após a aplicação da água para injetáveis.

As fêmeas sobreviventes dos tratamentos com 250 mg/kg PC do extrato da casca do fruto e 150 mg/kg PC do extrato da folha recuperaram-se dos sintomas descritos anteriormente, respectivamente, 3 e 4 h após a aplicação. Entretanto, os animais sobreviventes que receberam 75 mg/kg PC do extrato das folhas apresentaram melhora clínica somente 24 h após a inoculação. Os animais inoculados com 500 mg/kg PC do extrato aquoso das cascas do fruto apresentaram espasmos, movimentos de pedagem e decúbito lateral ou abdominal antes do óbito.

#### DISCUSSÃO

Segundo Schwartsman [26], em uma escala crescente de toxicidade, o número 1 representa substâncias praticamente atóxicas, com  $DL_{50}$  superior a 15 g/kg PC e 6, as supertóxicas, com  $DL_{50}$  inferior a 5 mg/kg PC. Dessa forma, os extratos aquosos das cascas do fruto e das folhas de pequi apresentaram grau de toxicidade quatro para ambos os sexos, pois as  $DL_{50}$  situaram-se entre 50 a 500 mg/kg PC, sendo classificados como muito tóxicos.

Para ambos experimentos, foram observadas alterações comportamentais semelhantes. Possivelmente, porque a composição fitoquímica da casca do fruto e das folhas seja próxima. Testes fitoquímicos qualitativos com a casca do fruto de pequi indicaram a presença de saponinas, de taninos totais, de taninos catequéticos, de flavonoides, de catequinas, de esteroides e de xantonas [19]. No extrato etanólico da casca do fruto, identificaram-se compostos fenólicos, como taninos hidrolisáveis e ácido fenólico, além de flavonoides [23]. Os bioativos já identificados nas folhas do pequi correspondem aos grupos dos taninos condensados, dos taninos hidrolisáveis, dos flavonoides e dos terpenoides [6,22] e das saponinas [22].

Quadros clínicos observados no presente experimento foram semelhantes aos registrados por Almeida *et al.* [4] ao administrarem extrato hidroalcoólico do farelo da casca do fruto do pequi por via intraperitoneal em camundongos. Esses autores observaram que os efeitos foram de estimulantes a depressivos cinco minutos após a administração do extrato. Entre os compostos secundários apresentados pela casca do fruto e folhas, as saponinas e os taninos podem provocar sintomas nervosos [8,11].

Ferreira *et al.* [8] relataram em bovinos intoxicados experimentalmente com favas de *Stryphnodendron fissuratum*, por via oral, a ocorrência de incoordenação motora, dispneia, taquipneia, respiração abdominal e decúbito lateral seguido de morte e associaram tais sintomas às saponinas da planta, designadas como stryphnosídeos [10,29]. As saponinas triterpênicas promovem a abertura de grandes canais de cálcio e potássio-dependentes nas membranas de neurônios e células musculares, provocando hiperpolarização e supressão da atividade elétrica [15]. Já foram identificadas aproximadamente 35 saponinas triterpênicas em *Caryocar glabrum* e *Caryocar villosum*, denominadas caryocarosídeos [1-3].

As saponinas ainda possuem atividade citotóxica, ao formarem complexos com o colesterol e esteroides da membrana celular, promovem a formação de poros e aumentam a permeabilidade, além de alterarem carboidratos da superfície celular, resultando em hemólise [9]. As saponinas bidesmosídicas de *Caryocar glabrum* são menos hemolíticas quando comparadas às monodesmosídicas, pois a ruptura aumenta com o maior número de unidades de carboidratos ligados na posição três do aglicona [3].

A toxicidade dos taninos pode ser direta ou indireta e relaciona-se à inibição enzimática, à indisponibilização de substratos e à ação nas membranas, pois possuem capacidade de se complexarem a proteínas, polissacarídeos e íons, como ferro, manganês, vanádio, cobre, alumínio e cálcio [20,25]. Em ovelhas, 3 g/kg PC da formulação comercial de tanino de quebracho (*Schinopis balansae*) administrados por via intraperitoneal promoveram fraqueza e depressão física no quinto dia após a aplicação, observando-se decúbito, taquicardia e taquipnéia no oitavo dia, possivelmente associados aos taninos [11].

Apesar de não haver registros na literatura de intoxicação de animais e/ou humanos com qualquer

parte vegetal de *C. brasiliense*, o desenvolvimento de estudos específicos para determinação de sua toxicidade torna-se de grande importância, visto que é uma espécie com grandes potencialidades para utilização não apenas dos frutos na alimentação, mas também finalidades medicinais, bem como as folhas.

#### CONCLUSÃO

Os extratos aquosos das cascas do fruto e das folhas do pequi são tóxicos, por via intraperitoneal, em camundongos fêmeas e machos, sendo que o extrato das folhas apresentou tanto DL<sub>10</sub> como DL<sub>50</sub> inferiores. Futuros estudos devem avaliar a toxicidade de *C. brasiliense* por outras vias e para outras espécies

de animais, considerando as possíveis diferenças nas composições fitoquímicas e nas concentrações dos compostos para diferentes partes dessa planta.

#### MANUFACTURERS

<sup>1</sup>Merck Millipore. Darmstadt, Germany.

<sup>2</sup>Purina do Brasil. São Paulo, SP, Brazil.

**Acknowledgements.** We would like to acknowledge the financial support of the FUNDECI - Banco do Nordeste, FAPEMIG, CNPq, CAPES, PRPq/UFGM.

**Ethical approval.** This study was approved by Ethics Committee of Animal Experimentation of Universidade Federal de Minas Gerais under protocol number 42/2008.

**Declaration of interest.** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

#### REFERENCES

- 1 Alabdul Magid A., Voutquenne L., Harakat D., Pouny I., Caron C., Moretti C. & Lavaud C. 2006. Triterpenoid saponins from the fruits of *Caryocar villosum*. *Journal Natural Products*. 69(6): 919-926.
- 2 Alabdul Magid A., Voutquenne L., Moretti C., Long C. & Lavaud C. 2006. Triterpenoid saponins from the fruits of *Caryocar glabrum*. *Journal Natural Products*. 69(2): 196-205.
- 3 Alabdul Magid A., Voutquenne-Nazabadioko L., Renimel I., Harakat D., Moretti C. & Lavaud C. 2006. Triterpenoid saponins from the stem bark of *Caryocar villosum*. *Phytochemistry*. 67(19): 2096-2102.
- 4 Almeida A.C., Macedo Sobrinho E., Pinho L., Souza P.N.S., Martins E.R., Duarte E.R., Santos H. O., Brandi I.V., Cangussu A.S. & Costa J.P.R. 2010. Toxicidade aguda dos extratos hidroalcoólicos das folhas de alecrim-pimenta, aroeira e barbatimão e do farelo da casca de pequi administrados por via intraperitoneal. *Ciência Rural*. 40(1): 200-203.
- 5 Belo R.F.C. 2009. Caracterização de genótipos de Pequi ( *Caryocar brasiliense* Camb.) pelo perfil cromatográfico de voláteis. 125f. Belo Horizonte, MG. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Federal de Minas Gerais.
- 6 Bezerra J.C.B., Silva I.A., Ferreira H.D., Ferri P.H. & Ferri S.C. 2002. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. *Fitoterapia*. 73(5): 428-430.
- 7 Chagas A.C.S. 2004. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 13(supl 1): 56-160.
- 8 Ferreira E.V., Boabaid, F.M., Arruda L.P., Lemos R.A.A., Souza M.A., Nakazato L. & Colodel E.M. 2009. Intoxicação por *Stryphnodendron fissuratum* (Mimosoideae) em bovinos. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 29(11): 951-957.
- 9 Gauthier C., Legault J., Girard-Lalancette K., Mshvildadze V. & Pichette A. 2009. Haemolytic activity, cytotoxicity and membrane cell permeabilization of semi-synthetic and natural lupane- and oleanane-type saponins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 17(5): 2002-2008.
- 10 Haraguchi M., Yokosuka A., Kawakami S., Chaves N.S.T., Brum K.B., Raspantini P.C., Górnica S.L. & Mimaki Y. 2006. Nuevas saponinas aisladas de las vainas del *Stryphnodendron fissuratum*. *Labciencia*. 3(1): 6-8.
- 11 Hervás G., Pérez V., Giráldez F.J., Mantecón A.R., Almar M.M. & Frutos P. 2003. Intoxication of sheep with quebracho tannin extract. *Journal of Comparative Pathology*. 129(1): 44-54.
- 12 Krychak-Furtado S., Negrelle R.B., Miguel O.G., Zaniolo S.R., Kapronezai J., Ramos S.J. & Sotello A. 2005. Efeito de *Carica papaya* L. (Caricaceae) e *Musa paradisiaca* Linn. (Musaceae) sobre o desenvolvimento de ovos de nematódeos gastrintestinais de ovinos. *Arquivos do Instituto Biológico*. 72(2): 191-197.
- 13 Maia J.G.S., Andrade E.H.A. & Silva M.H.L. 2008. Aroma volatiles of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.). *Journal of Food Composition and Analysis*. 21(7): 574-576.
- 14 Martins C.P.S., Moreira T.M.B., Magalhães H.M., Gomes J.G., Oliveira N.C.C., Carneiro, P.A.P., Lopes P.S.N. & Sales N.L.P. 2009. Utilização de extrato da folha de pequi e termoterapia no controle de fitopatógenos das sementes de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.). *Revista Brasileira de Agroecologia*. 4(2): 14-17.

- 15 McManus O.B., Harris G.H., Giangiacomo K.M., Feigenbaum P., Reuben J.P., Addy M.E., Burka J.F., Kaczowski G.J. & Garcia M.L. 1993. An activator of calcium-dependent potassium channels isolated from a medicinal herb. *Biochemistry*. 32(24): 6128-6133.
- 16 Miranda-Vilela A.L., Akimoto A. K., Alves P.C.Z., Pereira L.C.S., Gonçalves C.A., Klautau-Guimarães M.N. & Grisolia C.K. 2009. Dietary carotenoid-rich pequi oil reduces plasma lipid peroxidation and DNA damage in runners and evidence for an association with MnSOD genetic variant -Val9Ala. *Genetics and Molecular Research*. 8(4): 1481-1495.
- 17 Moreira P.F.S.D., Souza D.R. & Terrones M.G.H. 2008. Avaliação do potencial alelopático do extrato metanólico obtido das folhas de *Caryocar brasiliense* Camb. (pequi) na inibição do desenvolvimento da raiz em sementes de *Panicum maximum*. *Bioscience Journal*. 24(3): 74-79.
- 18 Nery P.S., Nogueira F.A., Martins E.R. & Duarte E.R. 2010. Effects of *Anacardium humile* leaf extracts on the development of gastrointestinal nematode larvae of sheep. *Veterinary Parasitology*. 171(3-4): 361-364.
- 19 Nogueira F.A., Fonseca L.D., Silva R.B., Ferreira A.V. P., Nery P.S., Geraseev L.C. & Duarte E.R. 2012. *In vitro* and *in vivo* efficacy of aqueous extract of *Caryocar brasiliense* Camb. to control gastrointestinal nematodes in sheep. *Parasitology Research*. 111(1): 325-330.
- 20 Okonkwo T.J.N., Okorie O., Okonta J.M. & Okonkwo C.J. 2010. Sub-chronic hepatotoxicity of *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) inner stem bark extract in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 72(3): 353-357.
- 21 Passos X.S., Santos S.C., Ferri P.H., Fernandes O.F.L., Paula, T.F., Garcia A.C.F. & Silva M.R.R. 2002. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 35(6): 623-627.
- 22 Paula-Júnior W., Rocha F.H., Donatti L., Fadel-Picheth C.M.T. & Weffort-Santos A.M. 2006. Leishmanicidal, antibacterial and antioxidant activities of *Caryocar brasiliense* Cambess leaves hydroethanolic extract. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 16(suppl 0): 625-630.
- 23 Roesler R., Catharino R.R., Malta L.G., Eberlin M.N. & Pastore G. 2008. Antioxidant activity of *Caryocar brasiliense* (pequi) and characterization of components by electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*. 110(3): 711-717.
- 24 Saeg. 2007. *Sistema para Análises Estatísticas*. Versão 9.1. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes - UFV.
- 25 Santos S.C. & Mello J.C.P. 2004. Taninos. In: Simões C.M.O., Schenke E.P., Gosman G., Palazzo De Mell J.C., Ment L.A. & Petrovick P. (Eds). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. Florianópolis: Editora da UFSC, pp.615-656.
- 26 Schwartsman S. 1988. *Produtos químicos de uso domiciliar - segurança e riscos toxicológicos*. 2.ed. São Paulo: Almed, 92p.
- 27 Silva M.C. & Gallo C.R. 2003. Avaliação da qualidade microbiológica de alimentos com a utilização de metodologias convencionais e do sistema Simplate. *Higiene Alimentar*. 17(107): 85-95.
- 28 Tahraoui A., Israili Z.H. & Lyoussi B. 2010. Acute and sub-chronic toxicity of a lyophilised aqueous extract of *Centaureum erythraea* in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*. 132(1): 48-55.
- 29 Yokosuka A., Kawakami S., Haraguchi M. & Mimaki Y. 2008. Stryphnosides AeF, six new triterpene glycosides from the pericarps of *Stryphnodendron fissuratum*. *Tetrahedron*. 64(7): 1474-1481.