



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS AGROSILVO-
PASTORIS DO SEMI-ÁRIDO**

**ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *ANACARDIUM
OCCIDENTALE* (Linn)**

FRANCIANNE OLIVEIRA SANTOS

**Patos/PB
2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SISTEMAS AGROSILVO-
PASTORIS DO SEMI-ÁRIDO**

**ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *ANACARDIUM
OCCIDENTALE* (Linn)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como uma das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-árido, para obtenção do Título de Mestre.

Autor: Francianne Oliveira Santos

Orientador: Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues

Patos/PB
2011

FRANCIANNE OLIVEIRA SANTOS

**ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *ANACARDIUM
OCCIDENTALE* (Linn)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como uma das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-árido, para obtenção do Título de Mestre.

APROVADA em 17/02/2011

Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa URCA

Prof. Dr. Marco Antônio Dias da Silva UFCG

**Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues UFCG
Orientador**

Patos/PB
2011

DEDICO

Dedico primeiramente **a Deus** e a todos que fizeram parte dessa discordante e emocionante fase de minha vida.

Com obrigação e muito amor e respeito devo dedicar ao meu núcleo familiar, que tanto me deu apoio e conselhos durante essa minha jornada, dedico 100% a minha mãe adorada (**Renilde Oliveira Santos**), ao meu pai querido (**Francisco Aderbal dos Santos**), aos meus irmãos (**Adenilde, Kaliane e Juninho**), ao meu tio **Emílio Fernandes**, ao meu namorado (**Adriano Meireles**) e a **todos os meus amigos**.

A vocês minha eterna gratidão pela compreensão nos momentos difíceis e por entenderem a minha ausência.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela força e saúde que sempre me proporcionou nesta caminhada e em toda minha vida, pelos momentos felizes durante esses anos e que me fizeram crescer.

Aos meus pais, **Renilde Oliveira Santos** e **Francisco Aderbal dos Santos**, por terem me dado apoio, carinho, compreensão, e por me mostrar o caminho da honestidade e dignidade (obrigada de coração, pois sem vocês eu não conseguiria vencer).

Aos meus irmãos, **Adenilde Oliveira Santos**, **Kaliane Oliveira Santos** e **Francisco Aderbal dos Santos Júnior** que caminharam comigo nesta jornada, vocês também constituem parte desse sonho.

Aos meus familiares (avós, tios e primos), que por sinal, não são poucos, agradeço a todos pela amizade, apoio, carinho e confiança.

Ao meu namorado, **Adriano Ferreira Meireles**, que me acompanha desde 2001, mesmo à distância sempre me deu apoio e me mostrou o caminho certo a se seguir.

Agradeço ao **Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues**, pelos seus ensinamentos, conhecimentos, orientação neste trabalho e por acreditar em mim.

Ao **Prof. Dr. José Galberto Martins da Costa**, coordenador do Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais-LPPN da Universidade Regional do Cariri - URCA, que disponibilizou o laboratório (LPPN), bem como seus conhecimentos para a realização desta pesquisa, sendo um incentivador e exemplo como profissional para minha vida acadêmica.

À **Fabíola Fernandes Galvão** e aos **estagiários** do LPPN, pela grande ajuda na execução dos testes realizados no laboratório, meu reconhecimento e admiração.

Às minhas amigas, **Elissandra Couras**, **Gabriella Marinho**, **Giuliana Amélia**, **Maísa Cordão**, **Mara Luana**, **Lucélia Fernandes**, **Sheina Campos** pela amizade, carinho e compreensão nos momentos mais difíceis.

A **turma 2009.1** pela união, carinho e amizade.

Aos **professores e funcionários** do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da UFCG, pela amizade e atenção durante estes dois anos.

A todos que de forma direta ou indireta contribuíram para minha formação acadêmica.

MUITO OBRIGADA!

“... Alfabetizar-se ecologicamente é reconectar-se com a teia da vida e significa construir, nutrir e educar comunidades sustentáveis, nas quais podemos satisfazer nossas necessidades sem diminuir as chances das gerações futuras...

Uma comunidade humana sustentável está ciente das múltiplas relações entre seus membros. Nutrir a comunidade significa essas relações...

A teia da Vida é uma rede flexível e sempre flutuante. Quanto mais variáveis forem mantidas flutuando, mais dinâmico será o sistema, maior será a flexibilidade e maior será sua capacidade para se adaptar a condições mutáveis...”

Fritjof Capra (A teia da vida).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
CAPÍTULO 1 Atividades biológicas do <i>Anacardium occidentale</i> (Linn)	iii
1 INTRODUÇÃO	13
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 Bioma Caatinga	14
2.2 Considerações sobre plantas medicinais	15
2.3 Aspectos botânicos e morfológicos do <i>Anacardium occidentale</i> L.	17
2.3.1 Taxonomia do <i>Anacardium occidentale</i> L. (cajueiro)	18
2.4 Alternativas para o controle da resistência bacteriana	19
2.5 Atividade antioxidante	20
3 REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO 2 Avaliação Antibacteriana do <i>Anacardium occidentale</i> (Linn).	29
RESUMO	29
ABSTRACT	30
1 INTRODUÇÃO	31
2 MATERIAL E MÉTODOS	32
2.1 Local de estudo	32
2.2 Seleção e coleta do material botânico	32
2.3 Obtenção de extratos etanólicos	32
2.4 Prospecção fitoquímica dos extratos	32
2.5 Ensaio microbiológicos	33
2.5.1 Avaliação da atividade antibacteriana das cascas do caule e folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L.	33
2.5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	34
2.6 Análise Estatística	36
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
3.1 Obtenção dos extratos das folhas e cascas do caule de <i>Anacardium occidentale</i> L.	37
3.2 Classes químicas presentes no extrato vegetal.	37

3.3 Resultados do teste antibacteriano dos extratos etanólicos das cascas do caule e folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L	38
3.4 Resultado da Concentração Inibitória Mínima – CIM	42
4. CONCLUSÕES	44
5 REFERÊNCIAS	45
CAPÍTULO 3 Avaliação Antioxidante de <i>Anacardium occidentale</i> (Linn).	47
RESUMO	47
ABSTRACT	48
1 INTRODUÇÃO	49
2 MATERIAL E MÉTODOS	50
2.1 Local de estudo	50
2.2 Seleção e coleta do material botânico	50
2.3 Obtenção de extratos etanólicos	50
2.4 Prospecção fitoquímica dos extratos	50
2.5 Avaliação da atividade antioxidante: Método de seqüestro do radical DPPH	50
2.6 Análise estatística	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
3.1 Obtenção dos extratos das folhas e cascas do caule de <i>Anacardium occidentale</i> L.	52
3.2 Classes químicas presentes no extrato vegetal	52
3.3. Determinação da capacidade antioxidante dos extratos obtidos das folhas e cascas do caule de <i>Anacardium occidentale</i> L.	53
4 CONCLUSÕES	55
5 REFERÊNCIAS	56

LISTA DE FIGURA**CAPÍTULO 1 Atividades biológicas de *Anacardium occidentale* (Linn)**

- FIGURA 1** *Anacardium occidentale*, (Cajueiro) 18
- FIGURA 2** Estrutura química de antioxidantes sintéticos: butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil hidroquinona (TBHQ) e o propil galato (PG) 21
- FIGURA 3** Reação química entre o BHT e o radical DPPH• 22

CAPÍTULO 2 Avaliação Antibacteriana de *Anacardium occidentale* (Linn).

- FIGURA 4** Perfuração dos poços com cilindro de aço inoxidável 34
- FIGURA 5** Replicação das bactérias com swab estéril 34
- FIGURA 6** Placa de microdiluição com as concentrações finais dos extratos no meio de cultura 35
- FIGURA 7** Adição da resazurina em cada poço 36
- FIGURA 8** Atividade antibacteriana do extrato bruto da casca do caule de *Anacardium occidentale* L. sobre *B. cereus*, nas concentrações de 10% (N), 5% (O), 2,5% (P), 1,25 % (Q), 0,6% (R) e 0,3% (S) 41
- FIGURA 9** Atividade antibacteriana do extrato bruto da casca do caule de *Anacardium occidentale* L. sobre *S. aureus* M.R (A) e *S aureus* - ATCC 12692 (B) nas concentrações de 10% (N), 5% (O), 2,5% (P), 1,25 % (Q), 0,6% (R) e 0,3% (S) 41

LISTA DE TABELA**CAPÍTULO 2 Avaliação Antibacteriana de *Anacardium occidentale* (Linn).**

- TABELA 1** Prospecção Química de *Anacardium occidentale* L. 37
- TABELA 2** Atividade antibacteriana (CIM) do extrato etanólico das folhas de *Anacardium occidentale* L. 39
- TABELA 3** Valores em µg/mL da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L. 42

CAPÍTULO 3 Avaliação Antioxidante do *Anacardium occidentale* (Linn).

- TABELA 4** Quantidades e rendimentos dos extratos brutos obtidos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L. 52
- TABELA 5** Prospecção Química de *Anacardium occidentale* L. 52
- TABELA 6** Resultados da atividade antioxidante dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L. utilizando o radical DPPH 54

CAPÍTULO 1

SANTOS, Francianne Oliveira. **Atividades biológicas de *Anacardium occidentale* (Linn)**. Patos, PB: UFCG, 2011. 57 p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido).

RESUMO

O cajueiro, *Anacardium occidentale* L., pertencente à família Anacardiaceae, é uma das espécies que apresenta grande importância para uso medicinal. Atualmente, tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Desta forma, objetivou-se avaliar as atividades antibacteriana e antioxidante dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais - LPPN da Universidade Regional do Cariri - URCA, em Crato, CE. As folhas e cascas foram coletadas no Viveiro Florestal do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos-UFCG, para obtenção dos extratos por meio de extração a frio com etanol P.A, em seguida concentrado em evaporador rotativo. Os extratos brutos foram utilizados para realizar a prospecção fitoquímica na identificação de seus constituintes químicos e para analisar as atividades antibacteriana e antioxidante. A atividade antibacteriana dos extratos foi verificada pelo método de difusão por cavidade e pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), enquanto que a antioxidante foi realizada pelo método de seqüestro de radicais livres usando o 1,1-difenil-2-picrilidrazila (DPPH). Constatou-se a presença de taninos, fenóis, catequinas e alcalóides nas folhas e cascas do caule, além de compostos pertencentes às classes dos flavonóides encontrados, somente, nas folhas. Estes compostos contribuíram positivamente nos resultados das atividades biológicas, o que motiva posteriores estudos para o isolamento e identificação dos princípios ativos.

Palavras chave: prospecção fitoquímica, atividade antibacteriana, atividade antioxidante, *in vitro*.

SANTOS, Francianne Oliveira. **Biological Activity of *Anacardium occidentale* (Linn)**. Patos, PB: UFCG, 2011. 57 p. (Dissertation – Magister Science in Animal Science - Agroforestry Systems in Semiarid).

ABSTRACT

The cashew, *Anacardium occidentale* L., belonging to the family *Anacardiaceae*, has great importance for medicinal use. Currently, there have been great scientific advances involving chemical and pharmacological studies of medicinal plants that aim to obtain new compounds with therapeutic properties. The aim of this work was to evaluate the chemical composition and the antibacterial and antioxidant activities of ethanolic extracts of the leaves and barks of *Anacardium occidentale* L. The experiment was conducted at the Research Laboratory of Natural Products - RLNP of Cariri Regional University - URCA, Crato - CE. The leaves and bark were collected at the Forest Nursery of the Campina Grande Federal University, Patos, to obtain the extract through cold extraction with ethanol P.A., then concentrate in a rotary evaporator. The crude extracts were used for the phytochemical screening to identify chemical constituents and to analyze the antibacterial and antioxidant activity. The antibacterial activity of extracts was verified by the diffusion for cavity method and by determining the minimum inhibitory concentration (MIC), whereas the antioxidant was performed using the sequestration of free radicals method using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Tannins, phenols, alkaloids and catechins in the leaves and stem bark, were detected and compounds belonging to classes of flavonoids found only in the leaves. These compounds contributed positively as biological activities, which motivates further study for isolation and identification of active principles.

Keywords: phytochemistry prospecting, antibacterial activity, antioxidant activity, *in vitro*.

1 INTRODUÇÃO

A região Nordeste do Brasil abriga em seu ecossistema, com predominância de Caatinga, uma grande biodiversidade, com um habitat específico para plantas medicinais e aromáticas, sendo considerada uma das mais ricas fontes de material com potencial farmacológico de todo mundo, devido à diversidade das espécies e aos conhecimentos oriundos da medicina tradicional integrante das culturas indígena, negra e européia (BRANDÃO et al., 2004).

A planta *Anacardium occidentale* L. pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida popularmente como cajueiro. É originária do Brasil, e utilizada na medicina tradicional, principalmente no Nordeste brasileiro com efeitos terapêuticos. Na literatura, encontram-se atividades farmacológicas comprovadas, como sendo o cajueiro uma planta antiinflamatória (OLAJIDE, 2004), antidiabética (BARBOSA-FILHO et al., 2005); inibidor da enzima acetilcolinesterase (BARBOSA-FILHO et al., 2006) e antimicrobiana (AKINPELU, 2001).

Atualmente, tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. As plantas medicinais são utilizadas em todos os níveis da população, e tal ocorrência ocorre devido o alto custo de remédios e o difícil acesso da população à assistência médica e farmacêutica. Mas apesar das ações benéficas das plantas, é importante verificar que alguns de seus constituintes podem ser tóxicos ao organismo, e o metabolismo vegetal também pode gerar componentes com esta atividade.

A necessidade de se utilizar plantas como alternativa para o controle microbiológico é porque as drogas naturais possuem uma diversidade molecular muito superior àquelas derivadas de produtos sintéticos e poderão promover a diminuição da indução de microorganismos resistentes. Em relação à atividade antioxidante, deve-se principalmente às propriedades presentes nas plantas que desempenham um papel importante na neutralização ou no seqüestro dos radicais livres sendo estes responsáveis por causar doenças como câncer inflamações, aterosclerose, artrite reumatóide e diabetes.

Diante do potencial botânico da Caatinga, da necessidade de se encontrar novos compostos com funções biológicas e do uso intenso do cajueiro na região Nordeste, para fins terapêuticos, o presente trabalho tem como objetivo verificar a composição e avaliar as atividades antibacteriana e antioxidante dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L. (Cajueiro).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Bioma Caatinga

A região Semi-árida do Nordeste do Brasil é marcada, em geral, pelo extrativismo de seus recursos naturais, pois as atividades agrícolas tradicionais são muito dificultadas pelos fatores climáticos. A pecuária extensiva de bovinos, ovinos e caprinos, uma das principais atividades econômicas dessa região, depende quase que exclusivamente da vegetação nativa e está associada à satisfação de necessidades sócio-econômicas de curto prazo, segurança e sobrevivência da população, especialmente dos pequenos pecuaristas (GUIMARÃES FILHO et al., 2000).

O bioma Caatinga, incluindo diversas formações vegetais, ocupa a maior parte desta região. O termo “Caatinga” é de origem Tupi e significa “mata branca”, referindo-se ao aspecto da vegetação durante a estação seca, quando a maioria das árvores perde as folhas e os troncos esbranquiçados e brilhantes dominam a paisagem (PRADO, 2003). Cobre a maior parte dos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e a parte Nordeste de Minas Gerais, no vale do Jequitinhonha. Estendendo-se por cerca de 900.000km², a Caatinga é limitada a leste e a oeste pelas florestas Atlântica e Amazônica, respectivamente, e ao sul pelo Cerrado (LEAL et al., 2005).

Esse ecossistema é muito importante do ponto de vista biológico por ser um dos poucos que tem distribuição restrita ao Brasil. Apresenta fauna e flora únicas, formada por uma vasta biodiversidade, rica em recursos genéticos e de vegetação constituída por espécies, lenhosas, herbáceas, cactáceas e bromeliáceas (SAMPAIO & BATISTA, 2004). A precipitação média anual varia entre 240 e 1.500mm, mas metade da região recebe menos de 750 mm e algumas áreas centrais menos de 500 mm. A maioria das chuvas na Caatinga (50-70%) são concentradas em três meses consecutivos, apesar da alta variação anual e dos longos períodos de seca serem freqüentes (PRADO, 2003).

Dentre os biomas brasileiros, é o menos conhecido cientificamente e vem sendo tratado com baixa prioridade, não obstante ser um dos mais ameaçados, devido ao uso inadequado e insustentável dos seus solos e recursos naturais, e por ter cerca 1% de remanescentes protegidos por unidades de conservação (ROCHA et al., 2007). A sua má utilização para fins pastoris, agrícolas e /ou silvícola tem conduzido a vegetação, bem como o solo, a um estado de degradação, onde o superpastoreio é caracterizado como o principal fator de destruição desse ecossistema (PEREIRA FILHO et al., 2000). Tudo isso faz da caatinga o terceiro bioma brasileiro mais alterado pelo homem, sendo ultrapassado pela floresta

Atlântica e pelo Cerrado. É necessário então, que haja mais estudos sobre esse bioma tanto da sua flora como também da distribuição de organismos na Caatinga são de fundamental importância para o entendimento da evolução, ecologia e da conservação dessa biota (TABARELLI & VICENTE, 2003).

2.2 Considerações sobre plantas medicinais

O Brasil é o país com a maior diversidade vegetal do mundo abrigando aproximadamente 22% da biodiversidade vegetal do planeta, em grande parte concentrada na Floresta Amazônica e no que resta da Mata Atlântica, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas, sendo que o uso de plantas no tratamento das doenças apresenta influências da cultura indígena, africana e européia e, essas influências, constituem a base da medicina popular que proporciona valiosas informações quanto às propriedades e indicações das plantas medicinais brasileiras (SIMÕES et al., 2003).

Os primeiros registros do uso das plantas na medicina estão nos papiros egípcios, e nos escritos chineses em folhas de bambu. No ano 3000 a.C, no antigo Egito, os papiros registraram o uso de quinhentas plantas medicinais, entre elas a Menta, Alecrim, Ginseng, Camomila, Absinto, Babosa, e Tomilho, sendo a maioria delas ainda utilizadas (YUNES & CALIXTO, 2001; SIMÕES et al., 2003). Em relação à utilização de extratos de plantas, métodos de extração mais eficientes foram adotados por volta dos anos 1500, quando o éter etílico foi usado por Paracelsus na Alemanha para extração. O "extrato etéreo" das plantas concentrava os princípios ativos e tornava mais poderosa a preparação das drogas (SIMÕES et al., 2003). Posteriormente, durante o período das grandes navegações surgiu a possibilidade da descoberta de novas plantas, que foram levadas de um continente a outro, deixando um valioso arsenal terapêutico para o mundo moderno (PINTO et al., 2002).

No início do século XIX, com o desenvolvimento da química farmacêutica, as plantas passaram a representar a primeira fonte de substâncias para o desenvolvimento de medicamentos. Atualmente, apesar do grande desenvolvimento da síntese orgânica e de novos processos biotecnológicos, 25% dos medicamentos prescritos nos países industrializados são originárias de plantas e 120 compostos de origem natural, obtidos a partir de cerca de 90 espécies de plantas, são utilizados na terapia moderna. De fato, os produtos naturais estão envolvidos no desenvolvimento de 44% de todas as novas drogas (HOSTETTMANN et al., 2003).

Uma das ferramentas mais relevantes no estudo de plantas medicinais é o resgate do conhecimento tradicional. Tal conjunto de conhecimentos sobre o uso de plantas forma hoje a fitoterapia popular. Segundo a Resolução da Diretoria Colegiada no. 48/2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, fitoterápicos são medicamentos preparados exclusivamente com plantas ou partes de plantas medicinais (raízes, cascas, folhas, flores, frutos ou sementes), que possuem propriedades reconhecidas de cura, prevenção, diagnóstico ou tratamento sintomático de doenças.

As plantas representam uma fonte importante de produtos naturais biologicamente ativos, muitos dos quais se constituem em modelos para a síntese de um grande número de fármacos. Esses produtos apresentam uma gama de diversidade em termos de estrutura e de propriedades físico-químicas e biológicas (PINTO et al., 2002). Apesar do grande número de pesquisas nesta área, os dados disponíveis revelam que apenas 15 a 17% das plantas foram estudadas quanto ao seu potencial medicinal (SIMÕES et al., 2003).

O aproveitamento adequado dos princípios ativos de uma planta exige o preparo correto, ou seja, para cada parte a ser usada, grupo de princípio ativo a ser extraído ou doença a ser tratada, exige forma de preparo e uso mais adequados. Os efeitos colaterais são poucos na utilização dos fitoterápicos, desde que utilizados na dosagem correta. A maioria dos efeitos colaterais conhecidos, registrados para plantas medicinais, são extrínsecos à preparação e estão relacionados a diversos problemas de processamento, tais como identificação incorreta das plantas, necessidade de padronização, prática deficiente de processamento, contaminação, substituição e adulteração de plantas, preparação e/ou dosagem incorretas (CALIXTO, 2000).

Em geral, os princípios ativos das plantas medicinais com atividade antimicrobiana são resultados do metabolismo secundário destas e acumulados em um ou vários dos seus tecidos. De uma forma geral, as plantas são capazes de produzir mais de 100.000 desses produtos naturais de baixo peso molecular (SIMÕES et al., 2003). Segundo Peres, (2008) metabolismo secundário de plantas é o conjunto de processos metabólicos que originam compostos que não possuem uma distribuição universal nos vegetais, por não serem necessários a todas as plantas. Diferente do primário, o metabolismo secundário não é essencial para o desenvolvimento do vegetal, mas é imprescindível para a sobrevivência de uma espécie dentro de um ecossistema, viabilizando a adaptação do indivíduo no ambiente, respondendo pelas relações e interações entre planta ambiente (MONTANARI JÚNIOR, 2002).

Existem três grandes grupos de metabólicos secundários, os compostos fenólicos, terpenos e alcalóides. Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico e ácido

mevalônico. Os terpenos são produzidos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Os alcalóides (também conhecidos como produtos secundários nitrogenados) são provenientes de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (ornitina). Flavonóides, taninos e ligninas fazem parte dos compostos fenólicos; óleos essenciais, saponinas, carotenóides e a maioria dos hormônios vegetais são terpenos; nicotina, cafeína e vincristina são alguns exemplos de alcalóides (ALVES, 2001).

Dos compostos químicos isolados de vegetais, os que apresentam maior potencial farmacológico são aqueles que possuem um grupamento fenólico (GIL et al., 2000). Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (SHAHIDI & NACZK, 2004).

O caju apresenta em sua composição vitaminas, taninos, sais minerais, ácidos orgânicos e carboidratos, constituindo-se como uma importante fonte nutricional. As folhas e cascas do cajueiro possuem esteróides, flavonóides, catequinas, fenóis, taninos, gomas, resinas, material corante, saponinas. O pseudofruto (a conhecida fruta caju): taninos, vitamina C (210mg para 100g de fruto), açúcares, carotenóides, ácidos orgânicos, proteínas, fibras, água, enquanto que o fruto (castanha) que possui a casca, tegumento e amêndoa, apresenta na casca, ácido anacárdico, anacardol, cardol, taninos, flavonóides, ácido gálico, ácido siríngico, galocatequina; no tegumento (a película que envolve a amêndoa) beta-sitosterol, epicatequina (substância com forte ação antiinflamatória) e na amêndoa (semente) óleo fixo de alta qualidade (45%), proteínas, minerais, esteróides, triterpenóides, tocoferóis (FUJITA, 2008).

Em levantamento realizado por Melo, (2002) sobre a espécie *A. occidentale* L., observou a presença de onze classes de metabólitos secundários diferentes, totalizando 101 compostos isolados nesta espécie. Porém, são os taninos os principais responsáveis pelas ações farmacológicas do cajueiro, que compõe o elenco de plantas que estão validadas como medicinais. Testes fitoquímicos realizados por Oliveira et al., (2008) com 4 clones de pedúnculos revelaram resultados positivos para a presença de taninos, antocianinas, flavonóides, flavonóis, flavovononas, flavononóis, xantonas e triterpenóides.

2.3 Aspectos botânicos e morfológicos do *Anacardium occidentale* L.

Originário da América Tropical, o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), única espécie cultivada e a mais dispersa do gênero (BARROS et al., 2002), pertence à família

Anacardiaceae, que inclui árvores e arbustos tropicais e subtropicais, que compreende cerca de 60 a 70 gêneros e 400 a 600 espécies, das 21 espécies de cajueiro identificadas, apenas três não são encontradas no Brasil. Uma é encontrada na Malásia e as outras duas na Amazônia venezuelana e colombiana (BARROS, 2002).

O principal centro de diversidade do gênero *Anacardium* é a região Amazônica, com um centro secundário de diversidade nos cerrados, no Planalto Central. Contudo, a maior diversidade de *Anacardium occidentale* L. encontra-se no Nordeste brasileiro (CRISÓSTOMO et al., 2002), em diversos ecossistemas, especialmente nas zonas costeiras, compondo a vegetação de praias, dunas e restingas. Além disso, é provável que o seu cultivo tenha origem no Nordeste, onde toda tradição de exploração pelas tribos indígenas da região é descrita pelos primeiros colonizadores (BARROS et al., 1995). Mais de 98% da área ocupada com cajueiro no Brasil se encontra na Região Nordeste. Deste total, 88,5% são cultivados nos Estados do Piauí, Ceará e Rio Grande do Norte. (IBGE, 2007).

Na natureza existem dois tipos de cajueiros bem definidos em relação ao porte, denominados de cajueiros tipos comum e anão precoce. O cajueiro comum é o mais difundido, apresenta porte elevado com altura variando de 8 m a 15 m e envergadura da copa que chega a atingir 20 m. Apresenta grande variação na distribuição de ramos e formatos de copa, que vai desde ereta e compacta até esparramada. A capacidade produtiva individual do cajueiro comum é muito variável, com plantas que produzem menos de 1 kg até mais de 100 kg de castanha por safra (BARROS, 2002).

2.3.1 Taxonomia do *Anacardium occidentale* (cajueiro)

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Sapindales

Família: Anacardiaceae

Gênero: *Anacardium*

Espécie: *A. occidentale*



Figura 1 *Anacardium occidentale*, (Cajueiro). Fonte: [http://www.arbolesornamentales.es/Anacardium occidentale.htm](http://www.arbolesornamentales.es/Anacardium%20occidentale.htm)

2.4 Alternativas para o controle da resistência bacteriana

A resistência aos antimicrobianos é um fenômeno genético, relacionado à existência de genes nos microorganismos que codificam um dos diferentes mecanismos bioquímicos que impedem a ação das drogas. Essa resistência pode ser originada por mutações que ocorrem durante o processo de divisão celular e resultam de erros de cópias na seqüência de bases que formam o DNA cromossômico (WANDERLEY et al., 2003). Embora existente, a resistência a drogas específicas nas bactérias causadoras de doenças era pouco freqüente no início da era da antibioticoterapia. Nos anos 60 e 70, o uso indiscriminado de penicilinas semi-sintéticas resistentes a penicilinases e de cefalosporinas favoreceu o aparecimento de linhagens de *S. aureus* resistentes a meticilina e na mesma época, o uso extensivo de ampicilina favoreceu o aparecimento de cepas de *E. coli* ampicilina-resistentes. Entre os anos 70 e 80, as bactérias Gram-negativas eram o grande obstáculo terapêutico, mas no novo milênio, as Gram-positivas passaram também a ocupar um lugar de destaque. Enquanto a resistência microbiana tem crescido de forma significativa, o número de antibióticos em pesquisas diminuiu drasticamente nos últimos anos (COUTINHO, 2009).

O uso incorreto de antimicrobianos, uma das principais causas do aparecimento da resistência, pode estar associado a fatores como doses subterapêuticas, inefetividade da droga selecionada, esquemas terapêuticos curtos, baixa penetração no local da infecção, conhecimento inadequado das propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos fármacos para escolha terapêutica, além de fatores relacionados ao paciente, como idade, status imunológico e não-adesão ao tratamento (COUTINHO, 2009).

Apesar de ser conhecido há muito tempo, continua sendo um grande desafio para a ciência, visto que classes de antimicrobianos têm se tornado cada vez menos eficazes frente a muitos microorganismos responsáveis por infecções em animais e humanos, gerando dificuldades no seu controle. Embora as indústrias químicas e farmacêuticas tenham desenvolvido uma variedade de diferentes drogas antimicrobianas nos últimos tempos, cada vez mais tem sido observado o aumento da resistência de bactérias tanto Gram-positivas quanto negativas a essas drogas usadas para fins terapêuticos. O aumento do número de linhagens patogênicas resistentes vem sendo documentado mundialmente, ao mesmo tempo em que esse problema vem sendo encarado de forma séria em vários programas de pesquisa, cujo objetivo é encontrar formas de utilização racional para os que já existem bem como o desenvolvimento de novos antimicrobianos (WANDERLEY et al., 2003).

A importância clínica crescente dada às infecções bacterianas comunitárias e hospitalares por cepas multiresistentes é preocupante, como também pelo desaparecimento da efetividade dos antibióticos usualmente utilizados, o que incentiva a realização de estudos relacionados à bioatividade dos produtos naturais, destacando óleos essenciais e fitoconstituintes isolados de plantas medicinais (BENKLEBLIA, 2004).

Neste sentido, vários trabalhos se embasam nas práticas tradicionais de medicina popular para fazer a triagem de atividade antibacteriana. Carvalho (2004) testou trinta e duas espécies diferentes de condimentos sobre quatro inóculos padronizados, dois Gram positivos: *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis* e dois Gram negativos: *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*. Doze das plantas selecionadas apresentaram atividade antibacteriana. Gonçalves (2005) estudou dezoito plantas resgatando o seu uso popular. Destas, cinco apresentaram melhor ação no controle de crescimento bacteriano. O extrato que mais se destacou foi o da *Cuphea carthagenensis* (sete sangrias).

Estudos mostram que várias partes de *Anacardium occidentale* L. podem apresentar atividade frente a algumas bactérias, conforme Melo et al., (2006) confrontaram o extrato da casca do caule de *Anacardium occidentale* L. com três espécies de *Streptococcus* isoladas de biofilme dental. Apresentou resultados significativos podendo, o extrato, ser usado terapêuticamente na odontologia como agente antibacteriano. Gonçalves et al., (2005), que avaliaram a atividade antibacteriana com extrato da castanha do caju, frente a 10 linhagens de bactérias em que 4 (*Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* spp. Coagulase –) foram sensíveis ao extrato, e as demais (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia* spp., *Pseudomonas aeruginosa*) se apresentaram resistentes ao extrato da castanha do caju.

2.5 Atividade antioxidante

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres e tem sido chamado de estresse oxidativo, podendo causar danos aos lipídios, proteínas, carboidratos, ácidos nucléicos e outras substâncias oxidáveis (LEITE & SARNI, 2003). Este desequilíbrio, por sua vez, está associado a muitos fenômenos fisiológicos, patológicos e a processos adversos como inflamação, envelhecimento, carcinogênese entre outros (DEAN et al., 1997).

Os radicais livres são moléculas muito reativas, derivados de oxigênio e nitrogênio, formados fisiologicamente no corpo humano. Tal formação envolve o combate a

microorganismos invasores e o controle da pressão sanguínea. Alternativamente, a formação de radicais livres pode ser resultado do desacoplamento da cadeia respiratória, do descontrole dos mecanismos de combate a microorganismos ou do metabolismo de poluentes e medicamentos ou outros xenobióticos (BHOOLA et al., 2003).

Os antioxidantes, geralmente apresentam estrutura química aromática e contém pelo menos uma hidroxila, podendo ser sintéticos (Figura 2), como o butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil hidroquinona (TBHQ) e o propil galato (PG), largamente utilizados pela indústria de alimentos, ou naturais, substâncias bioativas tais como organosulfurados, fenólicos e terpenos, que fazem parte da constituição de diversos alimentos (BRENNA & PAGLIARINI, 2001).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (CHUN et al., 2005).

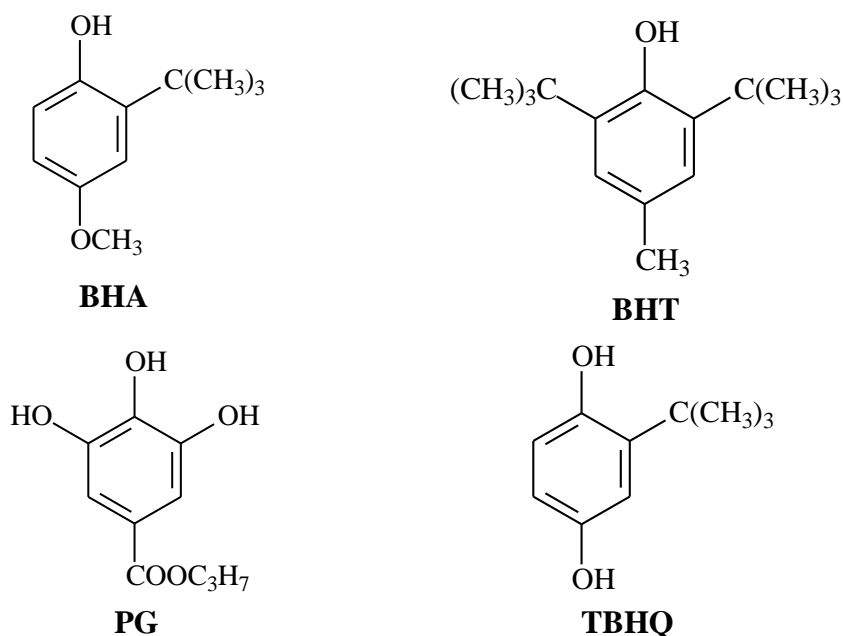


Figura 2 Estrutura química de antioxidantes sintéticos: butil-hidroxianisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil hidroquinona (TBHQ) e o propil galato (PG).
Fonte: SANTOS, F.O. (2011).

Os antioxidantes quer sejam naturais ou sintéticos, possuem elevada estabilidade oxidativa em função de sua estrutura molecular e por isso desempenham papel fundamental na prevenção à oxidação de substâncias. Sendo assim, podem ser definidos como qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparado a um substrato oxidável, retarda ou inibe a oxidação desse substrato (AUST et al., 2001).

Dentre os métodos que determina a habilidade dos antioxidantes em sequestrar radicais, destacam-se aqueles que envolvem um radical cromóforo, simulando as espécies reativas de oxigênio, dos quais os mais utilizados são o DPPH• (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) e o ABTS+• [2,2'-azino-bis(3-etil-benzolona-6-sulfonado)]. (ARNAO, 2000). A solução metanólica do DPPH•, de coloração púrpura, absorve luz no comprimento de onda de 517 nm. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H) (Figura 3). Nesta reação, a solução metanólica de DPPH•, inicialmente de coloração violeta, torna-se amarelada e o grau desta descoloração, que é monitorada espectrofotometricamente, indica a habilidade do antioxidante em sequestrar o radical livre. Os resultados podem ser expressos em porcentagem de sequestro de radicais/ou por porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional (HUANG et al., 2005).

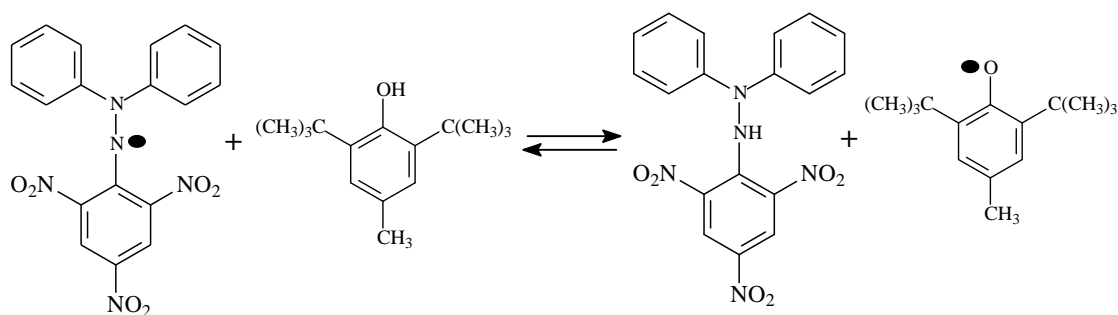


Figura 3 Reação química entre o BHT e o radical DPPH•. Fonte: SANTOS, F.O. (2011).

Estudos toxicológicos têm demonstrado que os antioxidantes sintéticos apresentam efeito nocivo ao organismo. O BHT vem sendo relacionado ao desenvolvimento de doenças pulmonares (HOCMAN, 1988). O BHA mostrou induzir hiperplasia gastrointestinal em roedores por um mecanismo desconhecido; e o TBHQ a redução do nível de hemoglobina e a hiperplasia de células basais (CRUCES-BLANCO et al., 1999).

Tendo em vista os indícios de problemas que podem ser provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, pesquisas têm sido desenvolvidas no sentido de encontrar

antioxidantes provenientes de fontes naturais, que possam atuar sozinhos ou sinergicamente com outros aditivos, como alternativa para prevenir a deterioração oxidativa de alimentos e limitar o uso dos antioxidantes sintéticos (DURAN & PADILLA, 1993).

Ajila et al., (2007) estudaram compostos bioativos e o potencial antioxidante de extratos provenientes da casca de manga, relatou uma alta atividade antioxidante deste material em diferentes sistemas. Extrato obtido a partir de resíduo agroindustrial de acerola exibiu ação antioxidante, com destaque para o hidroacetônico que se mostrou mais eficiente em sequestrar o radical DPPH (CAETANO et al., 2009).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJILA, C. M.; NAIDU, K. A.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO U. J. S. Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. **Food Chemistry**, 105(3)::982-988, 2007.
- AKINPELU, D. A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**, 72(3)::286-287, 2001.
- ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F.; SMÂNIA JÚNIOR A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, 96(3)::367-373, 2000.
- ALVES, H.M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. **Química Nova na Escola**, 3::10-15, 2001.
- ARNAO, M. B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends in Food Science & Technology**, 11(11)::419-421, 2000.
- AUST, O.; SIES, H.; STAHL, W.; POLIDORI, M.C. Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: tocopherols and carotenoids. **Journal of Chromatography**, 936(1)::83-93, 2001.
- BARBOSA-FILHO, J. M.; VASCONCELOS, T. H. C.; ALENCAR, A. A.; BATISTA, L.; OLIVEIRA, R. A. G.; GUEDES, D. N.; FALCÃO, H. S.; MOURA, M. D.; DINIZ, M. F. F. M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15::392-413, 2005.
- BARBOSA FILHO, J. M.; MEDEIROS, K. C. P.; DINIZ, M. F. F. M.; BATISTA, L. M.; ATHAYDE-FILHO, P. F.; SILVA, M. S.; DA-CUNHA, E. V. L.; ALMEIDA, J. R. G. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16::258-285, 2006.
- BARROS, L. M. Botânica, origem e distribuição geográfica. In: ARAÚJO, J.P.P.; SILVA, V.V. (Org.). **Cajucultura: modernas técnicas de produção**. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 1995. P.55-71.
- BARROS, L. M. **Caju. Produção: aspectos tecnológicos**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2002. 148p.
- BARROS, L. M.; PAIVA, J. R.; CAVALCANTI, J. J. V.; ARAÚJO, J. P. P. Cajueiro. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa: UFV, 2002. P.159-176.
- BENKEBLIA, N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). **Lebensmittel-wissenschaft und-Technologie**, 37(2)::263-268, 2004.

BHOOLA, K.D.; ODHAV, B. & REDDY, L. Natural products for cancer prevention: a global perspective. **Pharmacology & Therapeutics**, 99::1-13, 2003.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução RDC n° 48, de 16 de março de 2004. ANVISA. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.

BRANDÃO, M. das G. L.; DINIZ, B. C. & MONTE_MÓR, R. L. de M. Uso de espécies nativas na medicina popular em áreas da Amazônia. Plantas medicinais: um saber ameaçado. **Revista Ciência Hoje**, 35(206)::64 – 66, 2004.

BRENNA, O.V.; PAGLIARINI, E. Multivariate analyses of antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49(10)::4841- 4844, 2001.

CAETANO, A. C. S.; MELO, E. A.; LIMA, V. L. A. G.; MACIEL, M. I. S.; ARAÚJO, C. R. Extração de antioxidantes de resíduos agroindustriais de acerola. **Brazilian Journal of Food and Technology**, 12(2)::155-160, 2009.

CALIXTO J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 33(2)::179-189, 2000.

CARVALHO, H. H. C. **Avaliação da atividade antibacteriana de plantas com indicativo etnográfico condimentar**. 200f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2004.

CHUN, S. S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, 40 ::809-816, 2005.

COUTINHO, H. D. M. **Avaliação da Atividade Antibacteriana e Fotosensibilizante de Produtos Naturais da Região do Cariri Cearense**. Tese (doutorado) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa - PB. 2009.

CRISÓSTOMO, J. R.; CAVALCANTI, J. J. V.; BARROS, L. M.; ALVES, R. E.; FREITAS, J. G.; OLIVEIRA, J. N. Melhoramento do cajueiro-anão precoce: avaliação da qualidade do pedúnculo e a heterose dos seus híbridos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, 24(2)::477-480, 2002.

CRUCES-BLANCO, C.; SEGURA-CARRETERO, A.; RAMÍREZ-GARCÍA, M. I.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A. A Simple and Rapid Phosphorimetric Method for the Determination of α -Naphthaleneacetamide in Fruit Samples. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, 75(4)::377–385, 1999.

DEAN, R. T.; SHANLIN F.; STOCKER R.; DAVIES M. J. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. **Journal Biochemical**, 324(1)::1-18, 1997.

DURÁN, R.M. & PADILLA, B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, 44(2)::101-106, 1993.

FUJITA, G. T. BDRA-26-Caju, intenso caju. **Revista Terra da Gente**. Janeiro 2008.

GIL, M.I.; TOMAS-BARBERAN, F. A.; HESS-PIERCE, B.; HOLCROFT, D. M.; KADER, A. A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 48::4581-4589,2000.

GONÇALVES, A. R. **Fitodesinfecção aplicada a águas na perspectiva da agricultura familiar**. 130f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2005.

GONCALVES, J. L. S.; LOPES, R. C.; OLIVEIRA, D. B.; COSTA, S. S.; MIRANDA, M. M. F. S.; ROMANOS, M. T. V.; SANTOS, N. S. O.; WIGG, M. D. In vitro anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. **Journal of Ethnopharmacology**, 99(3)::403-407, 2005.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, 72(3)::353-358, 2005.

GUIMARAES FILHO, C.; SOARES, J. G. G.; ARAUJO, G. G. L. Sistemas de produção de carnes caprina e ovina no semi-árido nordestino. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE, 1., João Pessoa, 2000. **Anais...**, João Pessoa, SINCORTE, 2000. p. 21-33.

HOCMAN, G. Chemoprevention of cancer: phenolic antioxidants (BHT, BHA). **The Internacional Journal of Biochemistry**, 20(7)::639-651, 1988.

HOSTETTAMANN, K.; QUEIROZ, E.F. & VIEIRA, P.C. A importância das plantas medicinais. In: **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFScar, 2003. 152p.: il. Cap.1, p. 9-42, cap. 2, p. 43-58.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53(6)::1841-1856, 2005.

IBGE. **Indicadores conjunturais: agropecuária, produção agrícola 2007**. Disponível em: www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf. Acesso em: 23 fev. 2011.

LEAL. I. R.; SILVA, J. C.; TABARELLI, M.; LACHER JR, T. E. Mudando o curso da conservação da biodiversidade na Caatinga do Nordeste do Brasil. **Megadiversidade**, 1(1). 2005.

LEITE, H.P. & SARNI, R. S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, 18(2)::60-65, 2003.

MELO, A. F. M. **Estudo galênico de formas plásticas (gel e creme) do extrato bruto de *Anacardium occidentale* L.** Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife – PE. 2002.

MELO, A. F. M.; SANTOS, E. J. V.; SOUZA, L. F. C.; CARVALHO, A. A. T.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16(2)::202-205, 2006.

MOELLERING JÚNIOR, R. C. Novos desafios no campo das doenças infecciosas. In: Patógenos emergentes nas doenças infecciosas. **Euromédice**. Ed. Médicas.2000.

MONTANARI JÚNIOR, I. **Aspectos da produção comercial de plantas medicinais nativas**. CPQBA-UNICAMP, Campinas-SP. 2002.

OLAJIDE O. A. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on in vivo inflammatory models. **Journal of Ethnopharmacology**, 95::139-142, 2004.

OLIVEIRA, M. S. C.; ALEXANDRINO, C. D.; QUEIROZ, V. A.; VIEIRA, M. G. S.; MORAIS, S. M.; BATISTA, W. P. **Perfil fitoquímico e potencial antioxidante do pendúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.) de quatro clones diferentes**. 48º Congresso brasileiro de química. Rio de Janeiro – RJ, 2008.

PEREIRA FILHO, J. M.; AMORIM, O. S.; LUCENA, E. V.de.; SILVA, A. M. A.; CEZAR, M. F.; AMORIM, F. U.; SOUSA, I. S. Altura e frequência de corte da jurema preta (*Mimosa tenuiflora* Wild.): densidade e sobrevivência. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL II e SIMPÓSIO NORDESTINO DE RUMINANTES, VII. 2., Fortaleza, 2000. **Anais...** Fortaleza, Sociedade Nordestina de Produção Animal, 2000. p. 22-24.

PERES, L. E. P. **Metabolismo Secundário**. 2008. Disponível em: www.ciagri.usp.br/~lazaropp. Acesso em: 15 out. 2009.

PINTO, A.C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos Naturais Atualidades, Desafios e Perspectivas. **Química Nova**, 25(Supl. 1)::45-61, 2002.

PRADO, D. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I. R.; TABARELLI, M.; SILVA J. M. C., ed. **Ecologia e conservação da Caatinga**. Editora Universitária, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. 2003. p. 3-73.

ROCHA, W. F.; SILVA, A. B.; NOLASCO, M. C.; LOBÃO, J.; BRITTO, D.; CHAVES, J. M.; ROCHA, C. C. Levantamento da cobertura vegetal e do uso do solo do Bioma Caatinga. In: XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Florianópolis, 2007. **Anais...** Florianópolis, INPE, 2007. p. 2629-2636.

SAMPAIO, Y. & BATISTA, J. E. M. Desenvolvimento regional e pressões antrópicas no bioma Caatinga. In: SILVA, J. M. C.; TABARELLI, M.; FONSECA, M. T.; LINS, L. V., org. **Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2004. p. 311-324.

SHAHIDI, F. & NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. CRC Press, Boca Raton, FL. 2004.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. M.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento** – Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFGRS/UFSC, 2003, p.291-320.

TABARELLI, M. & VICENTE, A. Lacunas de conhecimento sobre as plantas lenhosas da Caatinga. In: SAMPAIO, E. V. S. B.; GIULIETTI, A. M.; VIRGÍNIO, J.; GAMARRAROJAS, C. F. L., ed. **Vegetação e flora da Caatinga**. Recife: Associação de Plantas do Nordeste/Centro Nordestino de Informação sobre Plantas. 2003. p.25-35.

WANDERLEY, L. R.; SANTOS, A. L. A.; SILVA FILHO, A.V.; CORDEIRO, L. N.; SOUZA, L. B. S.; SANTANA, W. J.; COUTINHO, H. D. M. Resistência de *Pseudomonas aeruginosa* e outras bactérias Gram-negativas a drogas antimicrobianas. **Unimar Ciências**, 12::33-40, 2003.

YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V.; Plantas Medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B., ed. Argos: Chapecó, 2001.

CAPÍTULO 2

SANTOS, Francianne Oliveira. **Avaliação Antibacteriana do *Anacardium occidentale* (Linn)**. Patos, PB: UFCG, 2011. 17 p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido).

RESUMO

As propriedades antibacterianas de substâncias que as plantas contêm como produtos de seu metabolismo secundário, têm sido reconhecidas empiricamente durante séculos. Por outro lado, os microrganismos que causam prejuízos estão se mostrando resistentes à maioria dos antibacterianos conhecidos, o que incentiva ainda mais a procura por antibióticos de ocorrência natural. Diante da investigação fitoquímica e da problemática resistência bacteriana, este trabalho objetivou realizar um estudo fitoquímico e bacteriano dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L. As amostras foram submetidas à extração com álcool etílico a frio e o extrato bruto foi utilizado para desempenhar a avaliação fitoquímica, na identificação de seus constituintes químicos e, para avaliar a atividade antibacteriana, realizada pelo método de difusão por cavidade. Os resultados da prospecção química indicaram a presença de taninos, fenóis, catequinas e alcalóides nas folhas e cascas do caule, além de compostos pertencentes às classes dos flavonóides encontrados, somente, nas folhas. Nos testes pelo Método de Difusão em Agar para posterior determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), mostraram que ambas as partes da planta possuem atividade antibacteriana, porém a casca apresentou os maiores halos de inibição na maioria das concentrações e linhagens. A CIM variou entre 512µg/mL a $\geq 1024\mu\text{g/mL}$ para as duas partes da espécie em estudo. Os resultados obtidos apontam a necessidade da realização de novos estudos, pois este vegetal demonstrou possuir considerável potencial terapêutico antibacteriano.

Palavras chave: atividade antibacteriana, fitoconstituintes, bactérias, Concentração Inibitória Mínima.

SANTOS, Francianne Oliveira. **Antibacterial Evaluation of *Anacardium occidentale* (Linn)**. Patos, PB: UFCG, 2011. 17 p. (Dissertation –Magister Science in Animal Science - Agroforestry systems in Semiarid).

ABSTRACT

The antibacterial properties of substances that plants contain as products of their secondary metabolites have been known empirically for centuries. Although, the microorganisms that causes losses are proving resistant to most known antibiotics, which further encourages the search for naturally occurring antibiotics. This study aimed to perform a phytochemical study of bacterial and ethanolic extracts of leaves and barks of *Anacardium occidentale* L. The samples were submitted to extraction with ethyl alcohol and the crude extract was used to perform phytochemical evaluation, on the identification of chemical constituents and to evaluate the antibacterial activity, performed by diffusion for cavity method. The results of chemical prospecting indicated the presence of tannins, phenols, alkaloids and catechins in the leaves and stem bark, and compounds belonging to classes of flavonoids found only in the leaves. In tests by the Agar Diffusion Method for later determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) revealed that both parts of the plant have antibacterial activity, but the shell showed the largest zones of inhibition in most of concentrations and strains. The MIC ranged from 512 μ g/mL to \geq 1024 μ g/mL, for the two parts of this species. The results indicate the need for further studies because this plant has demonstrated considerable antibacterial therapeutic potential.

Keywords: antibacterial activity, phytochemicals, bacteria, Minimum Inhibitory Concentration.

1 INTRODUÇÃO

O uso constante de antibióticos tem provocado uma série de problemas dentre os quais se destaca a resistência microbiana, fazendo com que se busquem novos antibióticos que sejam eficazes, abrindo caminhos para a evolução das pesquisas, pois o desenvolvimento de qualquer novo antimicrobiano vem acompanhado pela resistência dos microrganismos. (MOELLERING JÚNIOR 2000).

O Brasil, pela sua vasta e rica biodiversidade vegetal, apresenta grande potencial para descoberta e desenvolvimento de novas moléculas naturais e bioativas com efeitos antimicrobianos. Inúmeras plantas são usadas como terapêutica medicinal em várias patologias, dentre elas as infecções bacterianas (ALVES et al., 2000).

O estudo fitoquímico de plantas medicinais constitui uma alternativa na procura de novos agentes terapêuticos, tanto o levantamento bibliográfico como o conhecimento popular serve de base para a identificação da atividade farmacológica de plantas medicinais. A importância da procura dos constituintes do metabolismo secundário das plantas tem aumentado e estimulado a busca nos vegetais de novos compostos com atividades biológicas.

A vegetação da Caatinga apresenta grande potencial botânico, dentre as espécies desse bioma, originário da América Tropical, o Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), espécie cultivada e mais dispersa do gênero (BARROS et al., 2002), pertence à família Anacardiaceae, que inclui árvores e arbustos tropicais e subtropicais. Seu uso abrange desde a preparação do “cauim” ou “mocaroró”, com o suco da fruta, à preparação da farinha, com o bagaço seco e a amêndoa da castanha assada, utilizada para alimentação e preparo de remédios. Os decocto e infuso são empregados na medicina popular como antiinflamatórios (OLAJIDE, 2004), antimicrobianos (AKINPELU, 2001), antidiarréicos (GONÇALVES et al., 2005) e antidiabéticos (BARBOSA-FILHO et al., 2005).

Devido ao uso intenso do Cajueiro na região Nordeste para fins terapêuticos, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a ação antibacteriana dos extratos etanólico das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L. como um tratamento alternativo para infecções causadas por agentes bacterianos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de estudo

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Regional do Cariri – LPPN - URCA, Crato-CE.

2.2 Seleção e coleta do material botânico

As folhas e cascas do caule, da espécie vegetal estudada, foram coletadas no mês de outubro, no Viveiro Florestal do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campos de Patos – UFCG, no período da manhã. Após a coleta, partes da planta foram levadas para identificação botânica e preparação de exsicata, que foi montada e depositada no Herbário da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, no Campus de Patos, sob o registro de número #1522.

2.3 Obtenção de extratos etanólicos

Para obtenção dos extratos etanólicos das cascas do caule e folhas da espécie *Anacardium occidentale* L., foram utilizadas 310g e 193g das respectivas partes, por extração a frio com etanol a 95% (MATOS, 1988). Após 48 horas as misturas foram filtradas e destiladas em evaporador rotativo a 80°C sob pressão reduzida, obtendo-se os extratos brutos. Estes foram pesados e armazenados em temperatura ambiente até a realização das análises fitoquímicas e ensaios antibacterianos.

2.4 Prospecção fitoquímica dos extratos

A identificação das classes químicas, presentes nos extratos de *Anacardium occidentale* L., seguindo a metodologia descrita por Matos (1997), está baseada na observação de mudança de cor ou formação de precipitado, após a adição de reagentes específicos.

2.5 Ensaios microbiológicos

2.5.1 Avaliação da atividade antibacteriana das cascas do caule e folhas de *Anacardium occidentale* L.

As espécies de bactérias utilizadas nos ensaios microbiológicos foram fornecidas pelo Laboratório de Microrganismos de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), da Fundação Osvaldo Cruz (FIOCRUZ) e pelo Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (LPPN) da Universidade Regional do Cariri-URCA / CE. Foram três Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), *Staphylococcus aureus* M.R (358), *Bacillus cereus* (ATCC 33018) e três Gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Klebsiela pneumoniae* (ATCC 10031) e *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Foram preparados 120 mL de Agar Mueller-Hinton desidratado (Difco, Michigan, USA) na proporção 4,56 g do Agar em 120 mL de água destilada, conforme especificação do fabricante, e deixado em repouso à temperatura ambiente para hidratar. Em seguida, submeteu-se a esterilização por calor úmido, em autoclave a 121°C por 15 minutos e deixado resfriar após a autoclavação até a temperatura de 45-50°C. Em seguida, fazendo uso de uma pipeta graduada e esterilizada, foi vertido 20 mL de Agar Muller-Hinton em placas de Petri. As bactérias foram inoculadas em BHI (*Brain Heart Infusion Broth*) e mantidas em estufa bacteriológica a 37°C/24h (ROMEIRO, 2011).

Após a solidificação do meio de cultura em temperatura ambiente, foi realizada na sua superfície a replicação das bactérias com o auxílio de um swab estéril e em seguida usando uma haste cilíndrica de aço inoxidável com 6 mm de diâmetro perfuraram-se seis poços devidamente identificados onde se adicionou alíquotas de 20 µL das soluções teste nas seguintes concentrações: 10; 5; 2,5; 1,25; 0,6 e 0,3% (Figuras 4 e 5). Após o tempo de incubação adequado foram feitas as leituras dos resultados medindo os halos de inibição do crescimento em milímetro (ROMEIRO, 2011).

O teste foi realizado em duplicata, como base na técnica de cavidade em gel, seguindo a metodologia de Bauer et al. (1966) adaptada por Koneman et al. (1993) e Romeiro (2001). Foram selecionadas as cepas sensíveis para, em seguida, determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM). Utilizou-se o antibiótico Clorafenicol (30 µg) como controle positivo e o etanol como controle negativo.



Figura 4 Perfuração dos poços com cilindro de aço inoxidável. Fonte: SANTOS, F.O., LPPN /URCA, (2009).



Figura 5 Replicação das bactérias com swab estéril Fonte: SANTOS, F.O., LPPN /URCA, (2009).

2.5.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

As atividades antibacterianas dos extratos das cascas do caule e folhas da espécie em estudo foram avaliadas utilizando a metodologia de microdiluição em caldo, com base no documento M7-A6 (NCCLS, 2003) para bactérias. Previamente aos testes, as cepas bacterianas foram ativadas em meio Brain Heart Infusion Broth a 3,8% (BHI) durante 24 h a 35 ± 2 °C. Foram utilizadas seis linhagens padrões, fornecidas pela Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, sendo três Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), *Staphylococcus aureus* M.R (358), *Bacillus cereus* (ATCC 33018); três Gram-negativas:

Pseudomonas aeruginosa (15442), *Klebsiela pneumoniae* (10031) e *Escherichia coli* (25922). Após este subcultivo, procedeu-se à padronização do inóculo, que consistiu na preparação de uma suspensão bacteriana em BHI, cuja turvação fosse similar ao tubo 0,5 da Escala McFarland (1×10^8 UFC/mL). A seguir, esta suspensão foi diluída a 1×10^6 UFC/ mL em caldo BHI a 10%, em volumes de 100 μ L e então homogeneizados nos poços de uma placa de microdiluição acrescido de diferentes concentrações do produto natural, resultando num inóculo final de 5×10^5 UFC/mL (HADACEK & GREGER, 2000; NCCLS, 2003).

As concentrações finais dos extratos no meio de cultura foram 512, 256, 128, 64, 32, 16 e 8 μ g/mL (Figura 6). Os testes foram efetuados em duplicata e as placas foram incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 h. Como revelador foi utilizado 20 μ L/poço de resazurina a 0,01% (Figura 7). O controle negativo foi realizado com 100 μ L BHI caldo, acrescido do inóculo bacteriano padronizado. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração capaz de inibir completamente o crescimento bacteriano, nos poços de microdiluição conforme detectado a olho nu. A leitura dos resultados para determinação da CIM foi considerada como positivo para os poços que permaneceram com a coloração azul e negativa os que obtiveram coloração vermelha (SALVAT et al., 2001).

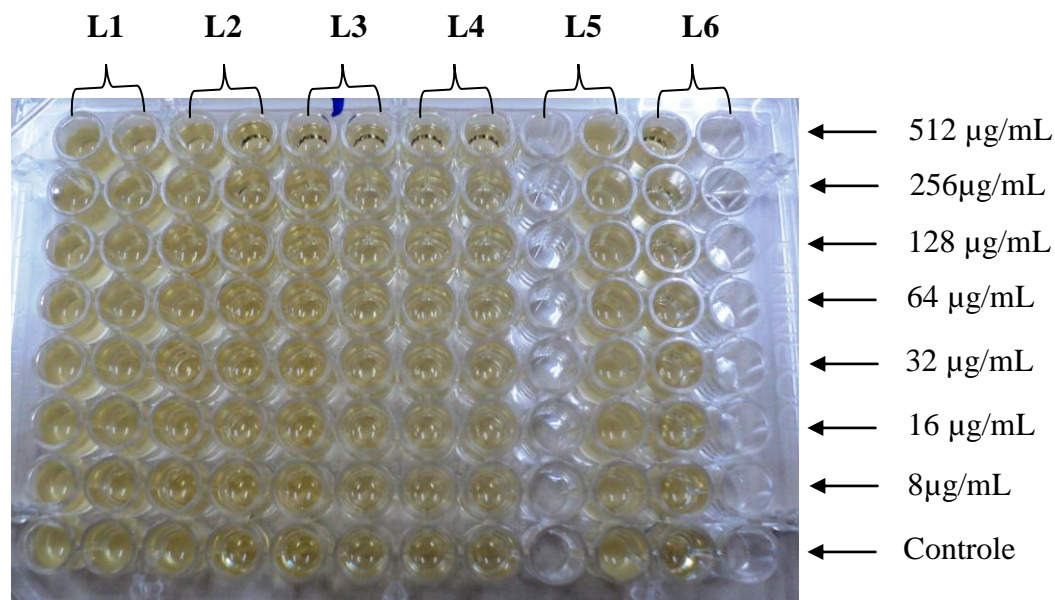


Figura 6 Placa de microdiluição com as concentrações finais dos extratos no meio de cultura. **L1:** *S. aureus*; **L2:** *S. aureus* M.R; **L3:** *B. cereus*; **L4:** *P. aeruginosa*; **L5:** *K. pneumoniae* e **L6:** *E. coli*. Fonte: SANTOS, F.O., LPPN /URCA, (2009).

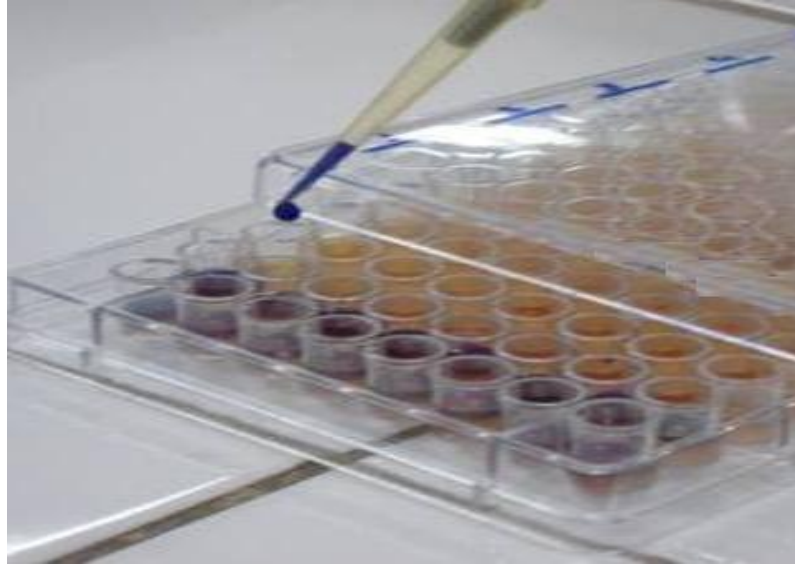


Figura 7 Adição da resazurina em cada poço. Fonte: SANTOS, F.O., LPPN /URCA, (2009).

2.6 Análise Estatística

Os resultados foram avaliados por análises estatísticas descritivas (média e desvio padrão) utilizando o programa SAS.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção dos extratos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L.

Após 48 horas da extração, as misturas foram filtradas e destiladas em evaporador rotativo oferecendo rendimentos de 8,7% para cascas do caule e 12,4% pra folhas e como massa final 27g e 24g respectivamente.

3.2 Classes químicas presentes no extrato vegetal.

No extrato etanólico das folhas de *Anacardium occidentale* L. foi identificado a presença de taninos hidrolizáveis, fenóis, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononois, catequinas e alcalóides. Já no extrato das cascas do caule apresentou taninos flobabênicos (tatinos condensados ou catequicos), fenóis, catequinas e alcalóides (Tabela 1).

Tabela 1 Prospecção química de *Anacardium occidentale* L.

PROSPECÇÃO QUÍMICA	Cascas do caule	Folhas
Teste para taninos e fenóis.	++	++
Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides.	- - -	- - +
Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas.	- + -	- + +
Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas.	- - - -	+ - + +
Teste para alcalóides.	+	+

Legenda: (+) Presença de compostos; (-) Ausência de compostos.

Estes resultados são condizentes com trabalhos encontrados na literatura como o de Bouzada et al., (2009), que confirmam a presença de alcalóides, triterpenos, taninos, flavanoides e antraquinonas, nas folhas do cajueiro e Paes et al., (2006), que mostraram a presença de taninos condensados na cascas do caule de *Anacardium occidentale* L.

Segundo Gobbo Neto & Lopes (2007), fatores como sazonalidade, ritmo circadiano, idade ou estágio de desenvolvimento, temperatura, disponibilidade de água, radiação UV, estímulo mecânico e ataque de patógenos, podem influenciar na quantidade e natureza dos constituintes ativos na planta. As variações sazonais podem alterar o conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários, como os óleos essenciais, ácidos fenólicos, flavonóides, saponinas, alcalóides, taninos, entre outros. Existe ainda uma correlação entre intensidade de radiação solar e produção de compostos fenólicos, tais como flavonóides, taninos e antocianinas.

3.3 Resultados do teste antibacteriano dos extratos etanólicos das cascas do caule e folhas de *Anacardium occidentale* L.

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados obtidos com os extratos etanólicos das cascas do caule e das folhas de *Anacardium occidentale* L., demonstrando que houve inibição de algumas bactérias pela verificação da formação de halos ao redor dos poços onde foram depositadas as soluções testadas. Foi considerada a concentração capaz de desenvolver halo de inibição do crescimento bacteriano maior ou igual a 10 mm de diâmetro (LIMA et al., 1993).

Diante disso, observou-se que as bactérias Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e *Klebsiela pneumoniae* (ATCC 10031) foram resistentes a maioria das concentrações dos extratos das cascas e folhas, sendo sensíveis somente nas concentrações de 10% e 5% com halos de inibição variando de 10 mm a 11,5 mm de diâmetro. Já para *Escherichia coli* (ATCC 25922), as concentrações dos extratos das duas partes da planta não formaram halos de inibição ≥ 10 mm de diâmetro, sendo considerada a mais resistente de todas as espécies testadas.

Em relação às bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), *Staphylococcus aureus* M.R (358) (Figura 9 A) e *Bacillus cereus* (ATCC 33018), foram mais sensíveis às concentrações dos extratos das cascas do caule e das folhas. O extrato etanólico das cascas do caule apresentou os maiores halos de inibição para a maioria das concentrações em relação às folhas, obtendo maior halo de 23,5 mm frente à bactéria *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692) na concentração de 10% (Figura 9 B). Considerando a riqueza de constituintes presentes em plantas, a atividade antibacteriana positiva do extrato do cajueiro das cascas do caule pode ser devido à presença de compostos como taninos e alcalóides previamente encontrados na planta, que, possivelmente possui uma maior concentração em relação às folhas.

Dos microrganismos testados, o *Bacillus cereus* (ATCC 33018) foi considerado o mais sensível, apresentando maior diâmetro do halo de 21,0 mm na concentração de 10% (Figura 8), sendo sensível a todas as concentrações das cascas do caule.

Em se tratando dos controles, o negativo não apresentou atividade antibacteriana em nenhuma linhagem, isto mostra que o etanol não interferiu nos resultados dos extratos. Enquanto que, o controle positivo apresentou bons resultados a uma bactéria gram-negativa e a todas gram-positivas, variando de 15,0mm a 23,0mm a formação dos halos de inibição.

Tabela 2 Atividade antibacteriana do extrato etanólico das folhas de *Anacardium occidentale* L.

		Média dos Halos de Inibição (mm de diâmetro) (Média + Desvio Padrão)					
		Microrganismos					
Partes da Planta	Concentração do extrato em %	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i> M.R	<i>E. coli</i>	<i>K.pneumonia</i>	<i>B.cereus</i>
Cascas	10	11,5±0,7*	23,5±2,12*	15,0±1,41*	9,0±0,0	9,5±0,7	21,0±0,0*
	5	9,5±0,7	15,0±1,41*	13,5±2,12*	8,0±0,0	10,0±0,0*	17,0±0,0*
	2,5	9,5±0,7	13,0±2,82*	12,0±1,41*	5,0±7,07	8,5±0,7	15,0±0,0*
	1,25	6,0±8,48	10,5±3,53*	10,0±0,0*	0,0±0,0	8,0±0,0	12,5±0,7*
	0,6	10,5±0,7*	5,0±7,07	9,5±0,7	0,0±0,0	4,0±5,65	11,5±0,7*
	0,3	5,0±7,07	0,0±0,0	7,5±0,7	0,0±0,0	3,5±4,94	10,0±1,41*
Folhas	10	10,0±0,0*	13,5±4,94*	10,0±2,82*	9,5±0,7	9,5±2,12	16,5±0,7*
	5	10,0±0,0*	8,0±1,41	6,0±8,48	9,5±0,7	9,0±1,41	10,0±1,41*
	2,5	9,0±0,0	7,5±0,7	0,0±0,0	7,5±0,7	4,5±6,36	11,0±1,41*
	1,25	8,0±0,0	7,5±0,7	0,0±0,0	7,5±0,7	4,5±6,36	9,0±0,0
	0,6	9,0±1,41	7,0±0,0	0,0±0,0	4,5±6,36	9,0±1,41	8,0±0,0
	0,3	0,0±0,0	8,0±1,41	0,0±0,0	3,5±4,94	3,5±4,94	0,0±0,0
Cont. (+)	Clorafenicol	0,0±0,0	16,0±0,0*	21,0±0,0*	0,0±0,0	15,0±0,0*	23,0±0,0*
Cont. (-)	Etanol	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0

*Concentração capaz de desenvolver halo de inibição do crescimento bacteriano ≥ 10 mm de diâmetro (LIMA et al. 1993).

A maior resistência dos microrganismos Gram-negativos era esperada, uma vez que estes apresentam particularidades estruturais que dificultam a penetração dos antibacterianos, como a camada externa de lipopolissacarídeos, que determina propriedades de superfície, tais como permeabilidade e susceptibilidade a antibióticos (YOKOTA & FUJII, 2007). Bactérias Gram-negativas possuem uma parede composta de várias camadas de peptidoglicanas, que diferem na sua composição química e, conseqüentemente, é mais complexa que a parede das Gram-positivas que, apesar de mais espessa, apresenta predominantemente um único tipo de macromolécula (CARVALHAL & ALTERTHUM, 2004). Esta é a razão pela qual as bactérias gram-positivas são mais sensíveis do que as bactérias gram-negativas.

O conhecimento das diferenças entre as paredes de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas é da mais alta relevância para o estudo dos mecanismos de ação dos quimioterápicos, de patogenicidade e de outros tantos assuntos que estão relacionados diretamente à composição química e estrutura da parede bacteriana (CARVALHAL & ALTERTHUM, 2004).

Para a *E. coli* (ATCC 25922), pode-se supor que a ineficácia dos produtos, além das características de parede celular, próprias da bactéria, a presença de fatores de virulência como plasmídios, transposons e integrinas e um eficiente processo de efluxo do antimicrobiano do meio intra-celular para o meio extra-celular, são fatores que podem contribuir para o aumento da defesa/resistência desta cepa. Este fato pode ser justificado pelo comportamento individual de cada cepa e pela presença de diferentes genes de resistência plasmidial e/ou cromossomial que determinam, além dos fatores de virulência, a resistência aos agentes antimicrobianos (TRABULSI et al., 1999).

Os resultados, deste estudo, condizem com o trabalho realizado por Melo et al., (2006), que avaliaram a atividade antibacteriana *in vitro* do extrato da casca de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*, apresentando atividade sobre *S. mitis*, *S. mutans* e *S. sanguis*, presentes no biofilme bacteriano supra gengival, com diâmetros dos halos variando de 11mm a 19mm e, Bouzada et.al., (2009), em que o extrato das folhas do cajueiro apresentaram atividade sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica* sorovar *typhimurium*, *klebsiela pneumoniae*, variando os halos entre 10mm a 23mm, demonstrando grande eficácia da planta.

Os resultados desta pesquisa corroboram com os dados da literatura, confirmando a atividade antibacteriana das cascas do caule e das folhas de cajueiro frente a uma diversidade de microorganismos.

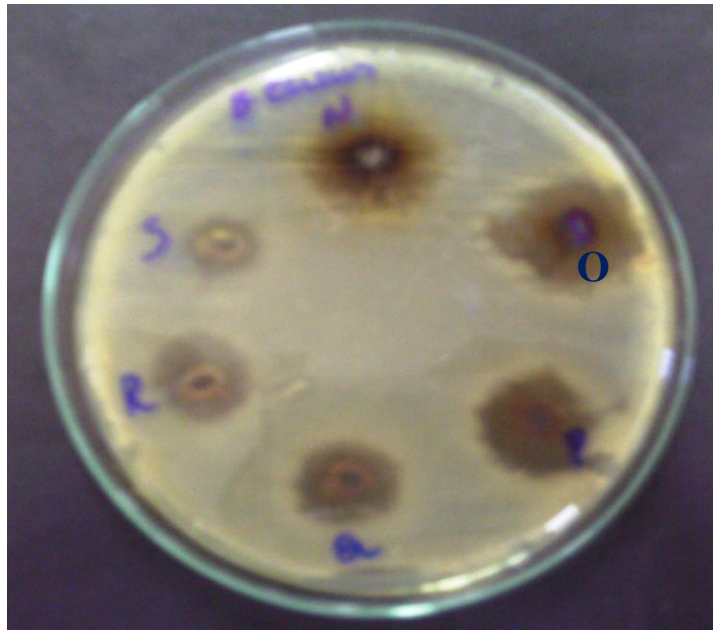


Figura 8 Atividade antibacteriana do extrato bruto da casca do caule de *Anacardium occidentale* L. sobre *B. cereus*, nas concentrações de 10% (N), 5% (O), 2,5% (P), 1,25 % (Q), 0,6% (R) e 0,3% (S). Fonte: SANTOS, F.O., LPPN /URCA, (2009).

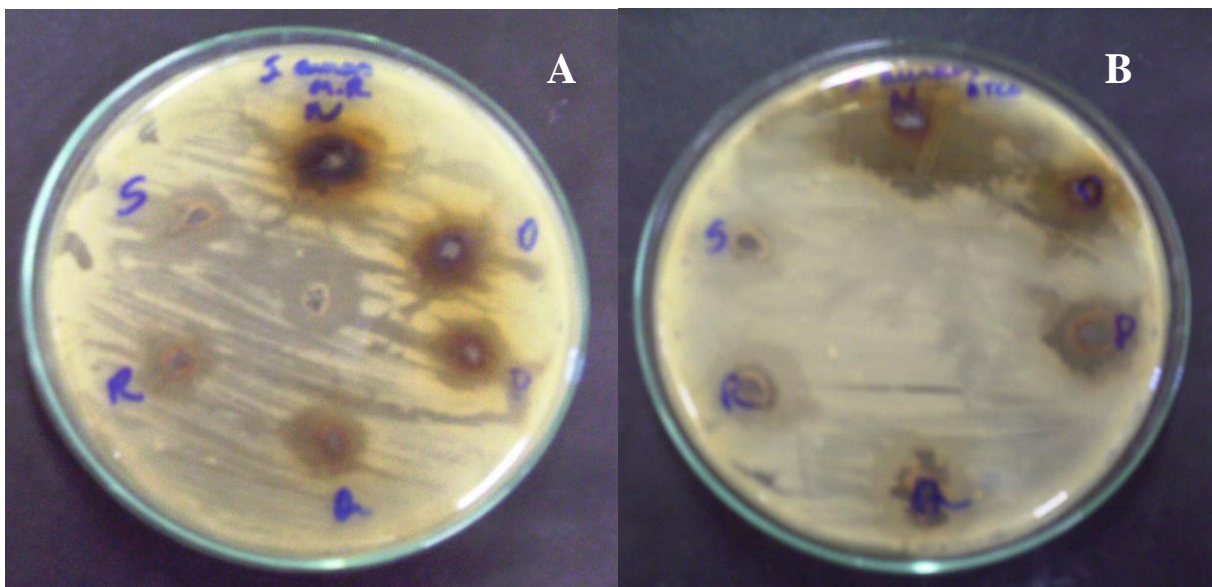


Figura 9 Atividade antibacteriana do extrato bruto da casca do caule de *Anacardium occidentale* L. sobre *S. aureus* M.R (A) e *S. aureus* - ATCC 12692 (B) nas concentrações de 10% (N), 5% (O), 2,5% (P), 1,25 % (Q), 0,6% (R) e 0,3% (S). Fonte: SANTOS, F.O., LPPN /URCA, (2009).

3.4 Resultado da Concentração Inibitória Mínima – CIM

As CIM's variaram entre 512 e ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$ frente aos microrganismos testados. Os valores de CIM foram determinados pela leitura visual após revelação com resazurina que é um indicador de óxido-redução que tem sido utilizado para avaliar a viabilidade de células bacteriana.

Na Tabela 3 estão representadas as Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM's) do extrato das cascas do caule e das folhas do cajueiro.

O extrato das cascas do caule apresentou CIM 512 $\mu\text{g/mL}$ para *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), *Staphylococcus aureus* M.R (358), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) e ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$ para *Klebsiela pneumoniae* (10031) e *Bacillus cereus* (ATCC 33018). Estes resultados demonstram que o extrato apresentou baixa atividade antibacteriana frente às linhagens *Klebsiela pneumoniae* (ATCC 10031) *Bacillus cereus* (ATCC 33018). Em relação às concentrações inibitórias mínimas (CIM's) do extrato das folhas do cajueiro, apresentaram CIM 512 $\mu\text{g/mL}$ para *Escherichia coli* (ATCC 25922) e ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$ para as outras linhagens.

A menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano foi de 512 $\mu\text{g/mL}$ frente às bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), *Staphylococcus aureus* M.R (358), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) para o extrato das cascas e, *Escherichia coli* (ATCC 25922) para ambos os extratos, mostrando-se mais sensível, a este teste, em relação às outras linhagens.

Tabela 3 Valores em $\mu\text{g/mL}$ da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L.

Microorganismos	Folhas $\mu\text{g/mL}$	Cascas $\mu\text{g/mL}$
<i>P. aeruginosa</i>	≥ 1024	512
<i>S. aureus</i>	≥ 1024	512
<i>S. aureus</i> M.R	≥ 1024	512
<i>E. coli</i>	512	512
<i>K. pneumoniae</i>	≥ 1024	≥ 1024
<i>B. cereus</i>	≥ 1024	≥ 1024

Araújo et al., (2009), estudaram a atividade bactericida, *in vitro*, do extrato da casca do caule do *Anacardium occidentale* Linn sobre os microrganismos formadores do biofilme

dental comparando com o gluconato de clorexidina a 0.12%. Determinaram a Concentração Inibitória Mínima em meio líquido (CIM), usando-se uma escala com concentrações crescentes do extrato hidroalcoólico do *Anacardium occidentale* Linn, variando da diluição 1:1 até 1:1024, seguindo-se o plaqueamento do conteúdo dos tubos contendo crescimentos visíveis ou não e determinação do número de colônias por placa. Todas as linhagens ensaiadas demonstraram elevada sensibilidade ao extrato do cajueiro em uma concentração de 1:4 (*Streptococcus sanguis* e *Lactobacillus casei*) a 1:8 (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus sobrinus*) comparado ao gluconato de clorexidina a 0.12% que atuou em uma concentração de 1:2 (*Streptococcus mitis*), 1:4 (*Streptococcus sobrinus*) e 1:8 (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* e *Lactobacillus casei*).

A não semelhança na CIM com o estudo realizado por Araújo et al., (2009), pode ser devido aos diferentes padrões de resistência das amostras ensaiadas, metodologia utilizada, extração com diferentes solventes utilizados e a época de coleta, fatores estes que podem influenciar na atividade farmacológica da planta.

Escolheu-se determinar a CIM através do método da microdiluição em caldo por se tratar de uma técnica quantitativa que remete em números a CIM de uma substância em oposição ao método da difusão em ágar, considerado como qualitativo (REIS, 2006).

4 CONCLUSÕES

Com base nos resultados encontrados, conclui-se que as diluições dos extratos das folhas e cascas do caule apresentaram atividade antibacteriana, porém as cascas apresentaram os maiores halos de inibição na maioria das concentrações e linhagens e, que a bactéria Gram-positiva *B. cereus* mostrou ser mais sensível às concentrações das duas partes da planta pela técnica de difusão. Em relação o método de microdiluição em caldo, a CIM variou ente 512µg/mL a $\geq 1024\mu\text{g/mL}$ para ambas as partes da espécie em estudo.

Diante disto, é confirmado o potencial terapêutico do *Anacardium occidentale* L que apresenta um grande potencial fitoquímico comprovando o verdadeiro valor biológico desta espécie de baixo custo e de fácil acesso a população.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKINPELU, D. A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**, 72(3)::286-287, 2001.
- ALVES, T. M. A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. M.; SMÂNIA, E. F.; SMÂNIA JÚNIOR A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, 96(3)::367–373, 2000.
- ARAÚJO, C. R. F.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; ALVES, P. M.; HIGINO, J. S.; MARTINS, A. B. Concentração Mínima Bactericida do Extrato do Cajueiro sobre Bactérias do Biofilme Dental. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria e Clínica Integrada**, 9(3)::187-191, 2009.
- BARBOSA-FILHO, J. M.; VASCONCELOS, T. H. C.; ALENCAR, A. A.; BATISTA, L.; OLIVEIRA, R. A. G.; GUEDES, D. N.; FALCÃO, H. S.; MOURA, M. D.; DINIZ, M. F. F. M.; MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 15::392-413, 2005.
- BARROS, L. M.; PAIVA, J. R.; CAVALCANTI, J. J. V.; ARAÚJO, J. P. P. Cajueiro. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais**. Viçosa: UFV, 2002. P.159-176.
- BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS J.C.; TURCK, M. Antibiotic Susceptibility testing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, 45::493-96, 1966.
- BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; DUARTE, G. G.; SCIO, E. Busca de novas drogas antimicrobianas a partir de vegetais. **Revista Principia**, 11. 2007.
- CARVALHAL, M. L & ALTERTHUM, F. Morfologia e estrutura da célula bacteriana. In: TRABULSI; L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 4 Ed. São Paulo, Atheneu, 2004. 718p.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, 30(2)::374-381, 2007.
- GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, 72(3)::353-358, 2005.
- HADACEK, F.; GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, compatibility of results and assay choice. **Phytochemical Analysis**, 11::137-147, 2000.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; DOWWEL-JUNIOR, V. R.; SOMMERS, H. M. **Diagnóstico Microbiológico – Texto e Atlas colorido**. 2 Ed. São Paulo: Medicina Panamericana. Editora do Brasil Ltda. 1993.

LIMA, E. O.; GOMPERTZ, O. F.; GIESBRECHT, A. M.; PAULO, M. Q. In vitro antifungal activity of essential oil obtained from officinal plants against dermatophytes. **Mycoses**, 36::333-336, 1993.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC, 128p. 1988.

_____. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC, 141p. 1997.

MELO, A. F. M.; SANTOS, E. J. V.; SOUZA, L. F. C.; CARVALHO, A. A. T.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 16(2)::202-205, 2006.

MOELLERING JÚNIOR, R. C. Novos desafios no campo das doenças infecciosas. In: Patógenos emergentes nas doenças infecciosas. **Euromédice**. Ed. Médicas.2000.

National Committee for Clinical Laboratory Standards; **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for bacteria that grow aerobically, Approved Standard M7-A6**, 6th ed., NCCLS: Wayne, 2003.

OLAJIDE O. A. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on in vivo inflammatory models. **Journal of Ethnopharmacology**, 95::139-142, 2004.

PAES, J. B.; DINIZ, C. E. F.; MARINHO, I. V.; DE LIMA, C. R. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. **Cerne**, 12(3)::232-238, 2006.

REIS, M. O. R. **Avaliação da atividade antimicrobiana “In Vitro” do extrato hidroalcoólico das folhas de *Persea gratissima* Gaertn (Abacateiro) (Lauraceae)**. 76f. Dissertação (Mestrado em Promoção de saúde). Universidade de Franca, 2006.

ROMEIRO, R. S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: Editora UFC. 2001.

SALVAT, A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R. H.; SUAREZ, E. Y.; GODOY, H. M., Screening of some plants from Northern Argentina for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology**, 32::293- 297, 2001.

TRABULSI, L. R.; MIMICA, I.; MIMICA, L. M. J. Características dos principais grupos de antibacterianos: espectro de ação e indicações In: TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3 Ed. São Paulo, Atheneu, 1999. P.99-104.

YOKOTA, S.; FUJII, N. Contributions of the lipopolysaccharide outer core oligosaccharide region on the cell surface properties of *Pseudomonas aeruginosa*. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, 30::97-109, 2007.

CAPÍTULO 3

SANTOS, Francianne Oliveira. **Avaliação Antioxidante do *Anacardium occidentale* (Linn)**. Patos, PB: UFCG, 2011. 11 p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia – Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido).

RESUMO

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres e tem sido chamado de estresse oxidativo. A utilização de substâncias com capacidade antioxidante pode ser de grande relevância na prevenção e terapêutica de doenças relacionadas com o aumento do estresse oxidativo. O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) apresenta substâncias fenólicas, as quais são atribuídas propriedades antioxidantes. Sendo assim, o presente trabalho objetivou realizar um estudo fitoquímico e antioxidante dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule do *Anacardium occidentale* L. As amostras foram submetidas à extração com álcool etílico a frio e o extrato bruto foi utilizado para avaliar a ação fitoquímica, na identificação de seus constituintes químicos e, para avaliar a atividade antioxidante pelo Método de Sequestro do Radical DPPH. Os resultados da prospecção química indicaram a presença de taninos, fenóis, catequinas e alcalóides nas folhas e cascas do caule, além de compostos pertencentes às classes dos flavonóides encontrados, somente, nas folhas. Quanto à atividade antioxidante, tal ensaio revelou que o extrato das cascas do caule foi mais ativo, nas concentrações utilizadas, como captador de radicais livres do que o extrato das folhas.

Palavras chave: caju, fitoconstituintes, antioxidantes, radicais livres.

SANTOS, Francianne Oliveira. **Antioxidant Evaluation of *Anacardium occidentale* (Linn)**. Patos, PB: UFCG, 2011. 11 p. (Dissertation –Magister Science in Animal Science - Agroforestry systems in Semiarid).

ABSTRACT

The imbalance between oxidant and antioxidant molecules results in induction of cell damage by free radicals and has been called oxidative stress. The use of substances with antioxidant capacity can be important to prevention and treatment of diseases related to increased oxidative stress. *Anacardium occidentale* L. presents phenolic substances, which are attributed antioxidant properties. Therefore, the present work had as objective to realize a phytochemical and antioxidant study of the ethanolic extracts of leaves and stem bark of *Anacardium occidentale* L. The samples were extracted with ethyl alcohol and the crude extract was used to evaluate the action phytochemical, identification of chemical constituents and to evaluate the antioxidant activity by the Method of Scavengers DPPH Radical. The results of chemical prospecting indicated the presence of tannins, phenols, alkaloids and catechins in the leaves and stem bark, and compounds belonging to classes of flavonoids found only in the leaves. The assay of antioxidant activity revealed that the extract from the stem bark was more active at the concentrations used, such as pickup of free radicals than the extract of the leaves.

Keywords: cashew, phytochemicals, antioxidants, free radicals.

1 INTRODUÇÃO

O desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres e tem sido chamado de estresse oxidativo, podendo causar danos aos lipídios, proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e outras substâncias oxidáveis. Este desequilíbrio, por sua vez, está associado a muitos fenômenos fisiológicos, patológicos e a processos adversos como inflamação, envelhecimento, carcinogênese entre outros. A utilização de substâncias com capacidade antioxidante pode ser de grande relevância na prevenção e terapêutica de doenças relacionadas com o aumento do estresse oxidativo (LEITE & SARNI, 2003).

Os antioxidantes quer sejam naturais ou sintéticos, possuem elevada estabilidade oxidativa em função de sua estrutura molecular e por isso desempenham papel fundamental na prevenção à oxidação de substâncias. Sendo assim, os antioxidantes podem ser definidos como qualquer substância que, presente em baixas concentrações, quando comparado a um substrato oxidável, retarda ou inibe a oxidação desse substrato (AUST et al., 2001)

A prevenção da oxidação pode ocorrer por fatores intrínsecos do próprio alimento, representados pela compartimentalização dos lípidos, pela presença de vitaminas antioxidantes como as vitaminas C, E, pelos carotenóides, que são compostos pró-vitamina A e pela presença de outros compostos cujas atividades têm sido bem comprovadas nos últimos anos em frutas e outros vegetais como os compostos fenólicos, tais como: flavonóides, ácidos fenólicos e as antocianinas (GIADA & MANCINI-FILHO, 2006)

O uso de antioxidantes naturais tem aumentado com as descobertas das propriedades dos componentes produzidos pelo metabolismo secundário das plantas. Atribui-se à presença de compostos fenólicos, com destaque aos flavonóides, a atividade antioxidante dos componentes produzidos pelos vegetais. (CANTERLE, 2005). Em função dos possíveis problemas provocados pelo consumo de antioxidantes sintéticos, as pesquisas têm-se voltado no sentido de encontrar produtos naturais com atividade antioxidante, os quais permitirão substituir os sintéticos ou fazer associação entre eles. (MELO & GUERRA, 2002).

Considerando a possibilidade de muitas plantas, serem fontes de antioxidantes, e os efeitos nocivos dos antioxidantes sintéticos, evidencia-se a importância de averiguar o potencial antioxidante de extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L. Esta atividade deve-se principalmente às propriedades presentes na planta, relacionadas à redução de doenças causadas por radicais livres.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de estudo

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Regional do Cariri – LPPN - URCA, Crato-CE.

2.2 Seleção e coleta do material botânico

As folhas e cascas do caule, da espécie vegetal estudada, foram coletadas no mês de outubro, no Viveiro Florestal do Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campos de Patos – UFCG, no período da manhã. Após a coleta, partes da planta foram levadas para identificação botânica e preparação de exsicata, que foi montada e depositada no Herbário da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG, no Campus de Patos, sob o registro de número #1522.

2.3 Obtenção de extratos etanólicos

Para obtenção dos extratos etanólicos das cascas do caule e folhas da espécie *Anacardium occidentale* L., foram utilizadas 310g e 193g das respectivas partes, por extração a frio com etanol a 95% (MATOS, 1988). Após 48 horas as misturas foram filtradas e destiladas em evaporador rotativo a 80°C sob pressão reduzida, obtendo-se os extratos brutos. Estes foram pesados e armazenados em temperatura ambiente até a realização das análises fitoquímicas e ensaios antibacterianos.

2.4 Prospecção fitoquímica dos extratos

A identificação das classes químicas, presentes nos extratos de *Anacardium occidentale* L., seguindo a metodologia descrita por Matos (1997), está baseada na observação de mudança de cor ou formação de precipitado, após a adição de reagentes específicos.

2.5 Avaliação da atividade antioxidante: Método de seqüestro do radical DPPH

A determinação da atividade antioxidante foi realizada por meio do seqüestro de radicais livres, pelo método fotolorimétrico *in vitro*, usando o 1,1-difenil-2-picrilidrazila

(DPPH). Essa análise é baseada na habilidade de compostos em doar um próton para o DPPH e formar estruturas de ressonância estáveis, estabilizando assim o radical livre. (MENSOR et al., 2001).

O ensaio foi realizado utilizando-se 1 mL da solução de DPPH (60 µM) e 2,5 mL de uma solução da amostra suspendida em etanol nas concentrações de 250, 125, 50, 25, 10 e 5 µg/mL. Essa reação transcorreu em temperatura ambiente, por 30 minutos, e em seguida a absorbância foi lida em Espectrofotômetro de Ultravioleta UV-Vis com comprimento de onda ajustado para 520 nm. Um teste em branco foi realizado adicionando-se 1 mL de etanol a 2,5 mL da amostra. Como controle negativo foi usada a mistura de 1 mL da solução de DPPH com 2,5 mL de etanol e como controle positivo utilizou-se o 2,5 mL das concentrações de BHT (butil-hidroxitolueno) e 1 mL da solução de DPPH.

A atividade antioxidante percentual foi obtida por regressão linear para a amostra, chegando-se assim à concentração necessária para se obter 50% do efeito antioxidante máximo estimado em 100% (CE₅₀) (MENSOR et al., 2001). O experimento foi realizado em triplicata.

A atividade antioxidante (AA) das amostras por seqüestro do DPPH foi expressa em percentagem, segundo a equação:

$$AA\% = 100 - \{ [Abs_A - Abs_B) \times 100] / Abs_C \} \quad (Eq.1)$$

Na qual:

%AA é a porcentagem de inibição do radical livre DDPH pela amostra em relação ao controle

Abs_A: é a absorvância da amostra na respectiva concentração.

Abs_B: é a absorvância da solução em branco

Abs_C: é a absorvância da solução controle

2.6 Análise estatística

Todas as determinações foram efetuadas em triplicata, o tratamento estatístico dos dados se deu pela análise de variância (ANOVA) seguida do Teste de Tukey (p < 0,05), através do software Prisma 5.0 (GraphPad). Os resultados foram expressos através do valor da CE₅₀, que representa a concentração da amostra necessária para seqüestrar 50% dos radicais de DPPH.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Obtenção dos extratos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L.

Após 48 horas da extração, as misturas foram filtradas e destiladas em evaporador rotativo oferecendo rendimentos, conforme mostra a tabela 4.

Tabela 4 Quantidades e rendimentos dos extratos brutos obtidos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L.

	Massa Inicial	Massa Final	Rendimento
Cascas	310g	27g	8,7%
Folhas	193g	24g	12,4%

3.2 Classes químicas presentes no extrato vegetal.

No extrato etanólico das folhas de *Anacardium occidentale* L. foi identificado a presença de taninos hidrolizáveis, fenóis, flavonas, flavonóis, xantonas, chalconas, auronas, flavononóis, catequinas e alcalóides. Já no extrato das cascas do caule apresentou taninos flobabênicos (taninos condensados ou catequicos), fenóis, catequinas e alcalóides (Tabela 5).

Tabela 5 Prospecção química de *Anacardium occidentale* L.

PROSPECÇÃO QUÍMICA	Cascas do caule	Folhas
Teste para taninos e fenóis.	++	++
Teste para antocianinas, antocianidinas e flavonóides.	- - -	- - +
Teste para leucoantocianidinas, catequinas e flavonas.	- + -	- + +
Teste para flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas.	- - - -	+ - + +
Teste para alcalóides.	+	+

Legenda: (+) Presença de compostos; (-) Ausência de compostos.

Estes resultados são condizentes com trabalhos encontrados na literatura como o de Bouzada et al., (2009), que confirmam a presença de alcalóides, triterpenos, taninos, flavanoides e antraquinonas, nas folhas do cajueiro e Paes et al., (2006), que mostraram a presença de taninos condensados na cascas do caule de *Anacardium occidentale* L.

Segundo Gobbo Neto & Lopes (2007), fatores como sazonalidade, ritmo circadiano, idade ou estágio de desenvolvimento, temperatura, disponibilidade de água, radiação UV, estímulo mecânico e ataque de patógenos, podem influenciar na quantidade e natureza dos constituintes ativos na planta. As variações sazonais podem alterar o conteúdo de

praticamente todas as classes de metabólitos secundários, como os óleos essenciais, ácidos fenólicos, flavonóides, saponinas, alcalóides, taninos, entre outros. Existe ainda uma correlação entre intensidade de radiação solar e produção de compostos fenólicos, tais como flavonóides, taninos e antocianinas.

3.3. Determinação da capacidade antioxidante dos extratos obtidos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L.

O valor de CE₅₀ visa dar parâmetros numéricos de quanto a planta é capaz de produzir substâncias antioxidantes e verificar a eficácia da mesma frente a radicais livres no modelo testado. Os valores de AA% e das concentrações (250, 150,50, 10 e 5 µg/mL) foram relacionados para resultar no valor de CE₅₀, que é a concentração necessária para produzir metade (50%) de um efeito máximo estimado em 100% para o extrato da planta.

Considerou-se como valor de referência a CE₅₀ de 35,50±0,50 µg/mL do BHT (controle positivo) para comparar com a atividade antioxidante dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L., sendo o BHT bastante utilizado como padrão para a atividade antioxidante (MENSOR et al., 2001).

Na tabela 6 estão representados os resultados quantitativos da atividade antioxidante dos extratos etanólicos da planta. Deste modo, observa-se que o extrato da casca do caule apresentou atividade seqüestradora do radical livre DPPH e com uma maior atividade em comparação ao BHT, com CE₅₀ de 6,32±0,6 µg/mL. Com base nesses dados, evidencia-se que os compostos bioativos presentes no extrato hidroalcoólico das cascas do caule, podem ter agido como seqüestradores de radicais pela capacidade de atuar como doador de hidrogênio (SHAHIDI et al., 2007).

O extrato das folhas não mostrou atividade antioxidante, frente às concentrações utilizadas, isto indica que, das concentrações usadas não houve uma que seqüestrasse 50% dos radicais livres, para isso teria que tentar uma concentração mais baixa para que pudesse obter resultados significativos.

Tabela 6 Resultados da atividade antioxidante dos extratos etanólicos das folhas e cascas do caule de *Anacardium occidentale* L. utilizando o radical DPPH.

Atividade Antioxidante – seqüestro do radical DPPH							
Média e desvio padrão							
	250µg/mL	125µg/mL	50 µg/mL	25 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	CE₅₀
Cascas	95,56±4,18	93,76±0,33	91,07±0,51	89,08±3,18	83,45±3,61	35,71±0,61	6,32±0,6
Folhas	91,05±2,48	91,96±0,70	95,32±0,62	94,20±1,34	79,66±3,08	76,99±2,47	X
BHT	91,2±0,1	88,0±0,03	60,1±0,1	31,8±0,2	10,5 ±0,1	3,28±0,06	35,5±0,5

É provável que esta atividade efetiva de seqüestro de radicais livres esteja correlacionada à quantidade elevada de compostos fenólicos. A eficiência antioxidante destes compostos bioativos depende de sua estrutura e da sua concentração, sendo esta, amplamente influenciada por fatores genéticos, condições ambientais, grau de maturação e variedade da planta (SHAHIDI & NACZK, 2004).

O percentual de varredura do radical DPPH, presente na literatura, mostra que na concentração de 0,5 mg de extrato aquoso e alcoólico do bagaço de pedúnculo de caju CCP-76 foi de 88 e 95% respectivamente (BROINIZI et al., 2007) e, na concentração de 10.000 ppm para os extratos da castanha e pendúnculo foi de 35,11% (CE₅₀=14,24 mg/mL) e 52,01% (CE₅₀=9,61mg/mL) respectivamente (OLIVEIRA et al., 2009).

Não obstante a diversidade de métodos para avaliar a atividade antioxidante, não existe um procedimento metodológico universal (FRANKEL & MEYER, 2000). Este fato impõe a necessidade de avaliar a capacidade antioxidante por diferentes ensaios. No entanto, estudos adicionais são necessários para testar sua ação antioxidante em outras condições experimentais.

4 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que o extrato das cascas do caule do cajueiro exibe forte ação antioxidante, quando *in vitro*, analisado pelo método de seqüestro do radical DPPH. Enquanto que, o extrato das folhas não apresenta a mesma eficiência, no modelo e nas concentrações utilizadas. Com isto estimula a continuidade dos estudos para avaliar a ação antioxidante em concentrações mais baixas e com isolamento de substâncias da espécie em estudo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUST, O.; SIES, H.; STAHL, W.; POLIDORI, M.C. Analysis of lipophilic antioxidants in human serum and tissues: tocopherols and carotenoids. **Journal of Chromatography**, 936(1)::83-93, 2001.
- BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; DUARTE, G. G.; SCIO, E. Busca de novas drogas antimicrobianas a partir de vegetais. **Revista Principia**, 11. 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**, 27(4)::902-908, 2007.
- CANTERLE, L. P. **Erva-mate e atividade antioxidante**. 99f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2005.
- FRANKEL E. N & MEYER A. S. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 80::1925-1941, 2000.
- GIADA, M. L. R. & MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde**, 12(4)::7-15, 2006.
- GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas Medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, 30(2)::374-381, 2007.
- LEITE, H.P. & SARNI, R. S. Radicais livres, antioxidantes e nutrição. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, 18(2)::60-65, 2003.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC, 128p. 1988.
- _____. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC, 141p. 1997.
- MELO, E. A.; GUERRA, N. B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. In: **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciências e Tecnologia de Alimentos**, 36(1)::1-11, 2002.
- MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; DOS SANTOS, T. C.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytother Research**, 15::127-130, 2001.
- OLIVEIRA, M. S. C.; ALEXANDRINO, C. D.; SILVA, J. A. da.; MORAIS, S. M. de. **Atividade Antioxidante e Perfil dos Ácidos Graxos do Clone BRS 226 de Caju (*Anacardium Occidentale* L.)**. 32^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química - Sociedade Brasileira de Química (SBQ). 2009.

PAES, J. B.; DINIZ, C. E. F.; MARINHO, I. V.; DE LIMA, C. R. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. **Cerne**, 12(2)::232-238, 2006.

SHAHIDI, F. & NACZK, M. **Phenolics in Food and Nutraceuticals**. CRC Press, Boca Raton, FL. 2004.

SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C.; LIYANA-PATHIRANA, C. M. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 55(4)::1212-1220, 2007.