

Atividade antioxidante e microbiológica in vitro de extratos de folhas de *Anacardium occidentale* L.

In vitro antioxidant and microbiological activity of Anacardium occidentale L. leaf extracts.

Anderson Barbosa Baptista¹, Guilherme Nobre Lima do Nascimento², Maria do Carmo Gouveia Peluzio³.

RESUMO

As espécies de *Anacardium occidentale* (caju e cajuí) são nativas do norte e nordeste do Brasil, possuem compostos bioativos no seu metabolismo secundário com funções antioxidantes, anti-inflamatório e microbicida. As bactérias multirresistentes são um grande problema de saúde pública e a utilização das plantas medicinais podem ser uma alternativa para complementar o tratamento, pois contém metabólitos que podem ser menos tóxicos e mais eficazes contra a resistência bacteriana. Foram coletadas folhas de duas plantas de *A. occidentale* (caju e cajuí), secas e trituradas e submetidas a extração com etanol PA. Foram analisadas a composição centesimal, testes de captura de radicais pelas técnicas de DPPH e ABTS e determinação da concentração inibitória mínima frente a cepas bacterianas multirresistentes, oriundas do Hospital Geral de Palmas. Resultaram em atividade antioxidante in vitro nos dois extratos, e com maior ação microbicida em cepas de *Staphylococcus aureus* e *Acinetobacter baumannii*. Estes resultados poderão contribuir com as práticas complementares e alternativas do Sistema Único de Saúde (SUS) favorecendo também, a busca por compostos menos tóxicos e com menores efeitos colaterais.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*. Antioxidante. Bactericida. Plantas medicinais.

ABSTRACT

Species *Anacardium occidentale* (cashew and cajuí) is native to the north and northeast of Brazil and have bioactive compounds in their secondary metabolism with antioxidant, anti-inflammatory, and microbicidal action. Multidrug-resistant bacteria are a major public health problem and the use of medicinal plants may serve as an alternative to complement treatments, as they contain metabolites that can be less toxic and more effective against bacterial resistance. Leaves of two *A. occidentale* plants (cashew and cashew), dried and crushed, were collected and submitted to extraction with PA ethanol. Proximate analysis and radical capture tests were done by DPPH and ABTS techniques and minimum inhibitory concentrations against multidrug-resistant bacterial strains from the Hospital Geral de Palmas were determined. The results were of antioxidant activity in vitro in both extracts, with greater microbicidal action in strains of *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter baumannii*. Such results may contribute to the complementary and alternative practices of the Unified Health System (Sistema Único de Saúde - SUS), also favoring research of less toxic compounds with fewer side effects.

Keywords: *Anacardium occidentale*; Antioxidant; Bactericide; Medicinal plants.

¹ Doutor em Ciências da Nutrição e Saúde. Universidade Federal do Tocantins, Coordenação de Medicina e Universidade Federal de Viçosa. E mail: biomeddu@yahoo.com.br
<https://orcid.org/0000-0003-2297-5039>

² Doutor em Química. Universidade Federal do Tocantins, Coordenação de Nutrição.

<https://orcid.org/0000-0003-4185-0872>

³ Doutora em Imunologia e bioquímica. Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Nutrição e Saúde.

<https://orcid.org/0000-0003-4665-7043>

1. INTRODUÇÃO

Anacardium occidentale L., popularmente conhecido como caju, é um membro da família Anacardiaceae, uma árvore indígena tropical do Brasil, possui o pseudofruto grande (5 – 11 cm) (BAPTISTA et al. 2018; TREVISAN et al. 2006). O cajueiro é utilizado na medicina tradicional e suas partes possuem efeitos anti-inflamatório, adstringente, microbicida e tratamento para alergias (SANTOS et al. 2018). A espécie *Anacardium microcarpum* D (cajuí) de pseudofruto pequeno (1 – 2,5 cm) é conhecido popularmente como cajuí ou cajuzinho do cerrado, é uma planta nativa que apresenta grande dispersão na região dos cerrados da Amazônia e das regiões Nordeste, Centro-Oeste e Sudeste brasileiro, ambas ricas em compostos polifenólicos, é considerado como um morfotipo do *Anacardium occidentale*, caju, apesar de popularmente serem tratados como distintos (PEREIRA et al. 2015; MULLER et al. 2017; PEREIRA et al. 2021), no entanto na nomenclatura atual o *A. microcarpum* pertence ao *A. occidentale* (CNCFLORA 2021).

Os compostos fenólicos, do metabolismo secundário das plantas, possuem anel aromático com hidroxilas, e desempenham o papel de agentes redutores, doadores de hidrogênio e quelantes de metais, agindo na neutralização de radicais livres (XIU-QIN et al. 2009; MENDES et al. 2019). Espécies de oxigênio reativas, como radicais superóxido, radicais hidroxila e peróxido de hidrogênio podem favorecer o estresse oxidativo e desenvolver doenças como câncer, distúrbios cardiovasculares, envelhecimento e doenças degenerativas, para tanto, compostos bioativos são boas alternativas de proteção como agentes antioxidantes. Técnicas *in vitro* da avaliação antioxidante muito utilizadas são o DPPH e o ABTS, pois são de baixo custo, eficientes e de fácil execução (RODRIGUEZ et al. 2017).

As bactérias resistentes são um problema de saúde pública em infecções nosocomiais, pois são causadoras de muitas mortes, aumentam o tempo de internação, proporcionam altos custos e diminuem as possibilidades de tratamento (AYCAN et 2015). Os gêneros envolvidos mais importantes são da família *Enterobacteriaceae* como a *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Enterobacter* spp e por bacilos não fermentadores como a *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia* (ROSE et al. 2018).

As plantas constituem uma imensa fonte de compostos secundários de ampla atividade biológica e sua utilização no combate aos microrganismos multirresistentes, podem ser uma alternativa importante (ELLER et al. 2015), contribuindo na elucidação de

substâncias menos tóxicas e mais eficazes contra a resistência bacteriana (SALEHI et al. 2020), com possibilidade de serem hipoalergênicas e com menor efeito colateral, normalmente provocados pelos antimicrobianos sintéticos (MOGHADDAM et al. 2019).

Este estudo objetivou determinar a composição centesimal das folhas secas e do extrato etanólico e avaliar a capacidade antioxidante *in vitro* e antimicrobiana, frente a cepas multirresistentes hospitalares, de duas plantas de *A. occidentale*, *in vitro*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta

Foram utilizadas folhas de *A. occidentale* de pseudofrutos grandes, conhecido popularmente como caju (pseudofruto de 5 a 11 cm) e pequenos conhecidos como cajuí (pseudofruto de 1,5 a 2,5 cm).

As coletas das folhas de caju e cajuí foram realizadas nos meses de novembro e dezembro, no campus da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Palmas-TO. Foram selecionadas folhas sem deformidades, de coloração verde, colocadas em saco de primeiro uso, lavadas em água destilada e em seguida colocadas em estufa de secagem no Laboratório de bioquímica da UFT. Após a secagem foram trituradas e armazenadas em frascos âmbar. As plantas foram depositadas excicatas no Herbário de Plantas Ecotonais da UFT/LCIA, sob os números 109 *A. occidentale* e 875 *A. occidentale* (*A. microcarpum*).

2.2 Extração

Para a obtenção do extrato etanólico, o material vegetal previamente triturado foi concentrado em etanol PA, por 72 h, e o sobrenadante foi retirado e reservado. Este procedimento foi repetido por três vezes consecutivas. O sobrenadante foi filtrado. Em seguida, o solvente foi destilado em evaporador rotativo a 80°C sob pressão reduzida. O extrato etanólico foi colocado em frascos estéreis de vidro e em estufa a 40°C para completar a total evaporação do etanol. Os extratos brutos foram acondicionados em frascos, envoltos com papel alumínio e colocados em geladeira para posteriores análises.

2.3 Composição centesimal da matéria seca de folhas e do extrato etanólico seco

A composição de cinzas foi determinada por meio do resíduo de incineração obtido por aquecimento em forno mufla em temperatura de 550°C. O conteúdo de proteínas foi

determinado por meio do método de *Kjeldahl* modificado. O conteúdo de lipídeos foi feito pelo método gravimétrico com extração pelo método de *Soxhlet*. Todas as determinações foram feitas em triplicata. Os resultados médios da composição centesimal foram expressos em porcentagem (%) da planta (matéria seca) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ 1985). Para a quantidade de fibra bruta pesou-se 1g da amostra seca e desengordurada, colocou-se em um saco de tecido de TNT, digeridas com H₂SO₄ a 1,25% e com NaOH a 1,25% utilizando o digestor de fibras modelo MA-444/CI a 90 °C. Após a digestão as amostras foram secas em estufa a 105°C por 12 horas e pesadas. Por fim, incineradas em forno mufla a 550°C (AOAC, 1990).

2.4 Prospecção fitoquímica

Foram pesados 10mg de cada uma das amostras e diluídas em 1 mL de metanol. Foi utilizada a metodologia de Cromatografia de Camada Delgada. Foi utilizada como fase estacionária sílica gel 60 F254 (DC-Fertigfolien ALUGRAM SIL G/UV) e como fases móveis: solução de Tolueno/éter etílico na proporção 1:1 e mistura de Acetato de etila, ácido fórmico, ácido acético, água na proporção 27,5 mL:2,5 mL:2,5 mL:6,0 mL, respectivamente. Foram aplicadas nas placas 20 µL de cada amostra. Após eluição da amostra em cuba cromatográfica foi realizada nebulização com reagente revelador, para cada grupo utilizou-se um sistema eluente adequado, reveladores específicos e amostras de referência, visando à presença dos seguintes grupos: Flavonóides; Taninos; Triterpenos; Saponinas; Alcalóides; Óleos essenciais; Cumarinas; Antraquinonas (STAHL 1971; MARINI-BETTOLO et al. 1981; WAGNER, BLADT 1996).

2.5 Análise antioxidante in vitro:

2.5.1 DPPH (Radicais 2,2 difenil-1-picrilidrazila)

Foi testada a atividade sequestrante de radicais livres dos extratos etanólicos de folhas de caju e cajuí, utilizando-se o modelo fotolorimétrico *in vitro* do radical livre estável DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazila). O método DPPH é baseado na captura do radical DPPH por antioxidantes, produzindo um decréscimo em 517 nanômetros. Foi preparado uma solução do extrato de concentração 64 g/l⁻¹. Pipetou-se 500 µl dessa solução e 3,5 mL da solução etanólica de DPPH para a leitura em espectrofotômetro a 517 nm deixando descansar, ao abrigo da luz, para a leitura após 60 minutos, contra o branco. Foi utilizado o padrão Trolox com as concentrações de 25,50,75,100,125,150,175,200,225 e 250 µmol L⁻¹ para a construção da curva de calibração. A absorbância média foi utilizada para o

cálculo na equação da reta da curva de calibração, obtendo-se uma concentração de extrato expressa em μmol de Trolox (BRAND-WILLIAMS, 1995).

2.5.2 ABTS (2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

A atividade antioxidante por meio da captura do radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) ABTS, método de capacidade antioxidante do equivalente Trolox, tem como princípio a medida da capacidade em estabilizar o cátion radicalar ABTS presente na solução, que volta à forma do composto neutro ABTS. Foi preparado uma curva de calibração a partir de uma solução de 30 μL de Trolox (10,30,50,70,90,110,130,150 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e acrescentou-se uma solução de ABTS, fez-se a leitura em espectrofotômetro a 734 nm. O branco é em solução de etanol ao invés do Trolox. Os extratos foram analisados utilizando as concentrações de 8, 16, 24, 32, 40 e 48 mg/ml de etanol 80% (LE, 1999).

2.6 Microbiologia – concentração inibitória mínima (CIM)

As cepas bacterianas utilizadas para os ensaios eram multirresistentes de no mínimo 3 classes de antimicrobianos, oriundas de fluídos corporais (sangue, escarro ou urina) de pacientes do Hospital Geral da cidade de Palmas, Estado do Tocantins. As espécies escolhidas foram: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. As espécies foram identificadas e confirmadas pelo Bactray 1,2,3, da empresa Laborclim, com perfil antimicrobiano identificado pelo método de difusão de discos. As mesmas foram armazenadas em freezer a -80°C .

Cada cepa foi inoculada em 9 ml de solução fisiológica estéril de modo a se obter uma concentração de 1.5×10^8 UFC/mL (0.5 *MacFarland*). Foram preparados soluções estoque dos extratos de *A. occidentale* e *A. microcarpum*, 5% de DMSO (dimetilsulfóxido), e água destilada estéril na concentração de 100 mg/mL.

Foram utilizadas microplacas de 96 poços para análise da concentração inibitória mínima dos extratos. Nos orifícios da microplaca (1-9) foram transferidos 100 μL de caldo Mueller Hinton, no poço 2 foram transferidos 100 μL do extrato de cada planta e homogeneizados. Em seguida, 100 μL dessa suspensão foram transferidos ao próximo poço na horizontal (3), assim sucessivamente até atingir o nono poço. 20 μL da solução bacteriana foi transferido em cada poço que contém a suspensão (1-9) e foram incubados a 37°C por 24 h. Nos orifícios da coluna 10 e 11 foram adicionados 100 μL da solução do

agente antimicrobiano (polimixina B; imipenen, respectivamente) utilizados como controle negativo, e aos orifícios da coluna 1 adicionamos 100 µL de Caldo Mueller Hinton e a cepa (controle positivo), em triplicata. Em cada linha da microplaca foi testada uma espécie bacteriana. O DMSO foi colocado em um poço com Mueller Hinton e a cepa para avaliação de possível ação relacionada. Os resultados foram avaliados em leitora de Elisa no comprimento de onda de 450 a 650 nm. Para evidenciá-las, usamos uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v) (SUFFEDRINI et al. 2007).

A concentração bactericida mínima foi confirmada no poço com menor concentração do extrato, no qual não foi evidenciado o crescimento bacteriano por meio da resazurina sódica a 0,05%.

As cepas bacterianas foram adquiridas no laboratório Centro de Medicina Diagnóstica do Hospital Geral de Palmas, com autorização do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFT, campus de Palmas-TO, processo número CAAE: 02314818.7.0000.5519.

2.6.1 Antimicrobianos

A resistência aos antimicrobianos foi verificada por meio da técnica de difusão de discos de Bauer e Kirby (1966), realizado dispensando os discos de antimicrobianos sobre a placa de ágar após a aplicação do inóculo bacteriano, e foi considerada cepa multirresistente a partir de três antimicrobianos resistentes, no entanto as cepas selecionadas apresentaram seis ou mais antimicrobianos com halos de resistência.

2.7 Estatística

Para as análises estatísticas utilizou-se o Programa *Graph Pad Prism 6*, para os testes de normalidade foi utilizado *Shapiro-Wilk* e *Tukey* nos pós teste para detectar as diferenças entre dois grupos, considerando $p < 0,05$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A busca por melhor qualidade de vida tem gerado um aumento na procura por tratamento complementares e integrativos, porém são necessárias comprovações destas terapias bem como atestar a segurança em seus usos e aplicações, para tanto, as plantas medicinais e a fitoterapia tem se mostrado eficaz na terapêutica clínica, pois apresentam em sua constituição uma gama diversificada de moléculas, tornando-as uma rica fonte de diferentes tipos de medicamentos (DAHAKÉ et al. 2009; SOARES et al. 2020). Os

compostos do metabolismo secundário responsáveis pela atividade farmacológica não são conhecidos em sua totalidade, mas acredita-se que envolvam a interação de inúmeras moléculas presentes no extrato (CARVALHO et al., 2014). É importante destacar que estudos com composição centesimal de folhas de *Anacardium* não foram encontrados.

Após a extração obtivemos extratos secos com rendimentos de 25,6% de *caju* (159,7 gramas de folhas secas e 41 gramas de extrato seco), e 19,3% de *cajuí* (136,4 gramas de folhas secas e 26,4 gramas de extrato seco). Com as folhas secas trituradas e o extrato seco foram determinados os valores da composição centesimal (Tabela 1).

Tabela 1. Determinação da composição centesimal da matéria seca das folhas e do extrato etanólico seco de *A.occidentale* (caju e cajuí).

%	<i>Caju</i> Folhas secas	<i>Cajuí</i> Folhas secas	<i>Caju</i> Extrato	<i>Cajuí</i> Extrato
Lipídios	1,60	1,18	2,73	7,49
Proteínas	6,30	7,92	1,85	1,98
Cinzas	2,56	1,75	0,87	0,40
Carboidratos	59,97	55,31	94,22	89,79
Fibra bruta	29,57	33,84	0,33	0,34
Total	100	100	100	100

Para entender o valor nutritivo, pois são alimentos funcionais com poder antioxidante, das folhas e a possibilidade de associar com possíveis preparos e formulações para o consumo humano para as atividades antioxidante e antimicrobiano realizou-se a composição centesimal. Populações tradicionais usam as folhas para chá do *A. occidentale* para tratar algumas enfermidades, bem como há registros de vários estudos com folhas, pseudofruto e cascas (MOREIRA et al. 2020; BRITO et al.2020). Não foi encontrado um estudo com a composição centesimal de folhas de caju e cajuí. Em relação ao fruto ALVES et al. (2013) fizeram a composição centesimal no Estado de Goiás e encontraram proteína 1,5%, lipídio 0,5% e carboidrato 14%.

Os ensaios deste estudo sugerem a presença de compostos dos metabolismos secundários como flavonoides, taninos, triterpenos, saponinas, alcaloides, cumarinas, antroquinonas, além de óleos essenciais (Tabela 2).

Tabela 2. Prospecção fitoquímica utilizando cromatografia de camada delgada dos extratos brutos de folhas de *A. occidentale* (Caju e Cajuí).

Compostos	<i>A. occidentale</i> (caju)	<i>A.occidentale</i> (cajuí)
Flavonoides	+	+
Taninos	+	+
Triterpenos	+	+
Saponinas	+	+
Alcalóides	-	-
Óleos essenciais	+	+
Cumarinas	-	-
Antraquinonas	-	-

A detecção de compostos do metabolismo secundário dos vegetais proporciona o entendimento da atividade dos extratos de caju e de cajuí nos ensaios propostos. Na prospecção fitoquímica dos dois extratos foram encontrados compostos bioativos flavonoides, taninos, triterpenos, saponinas e óleos essenciais confirmado por MARTÍNEZ-AGUILAR et al. (2012) que a partir do extrato etanólico (70%) de folhas de *A. occidentale* encontraram compostos taninos, flavonoides, triterpenos, cumarinas e saponinas. O solvente, a polaridade e a sazonalidade podem justificar o fato de não termos encontrado cumarinas, especialmente quando das variações de acordo com a intensidade de luz. Dependendo da formação do órgão vegetal, folhas jovens, flores, raízes, também pode haver diferentes formações de cumarinas (CZELUSNIAK et al., 2012). A presença de compostos fenólicos, flavonoides, taninos e óleos essenciais podem ser os responsáveis pelas atividades antioxidante e antimicrobiana *in vitro* (BARBOSA-FILHO et al. 2014).

Em outro estudo utilizando camundongos knockout IL 10 e Cromatografia de Alta Performance (HPLC), para avaliação das propriedades antioxidante e anti-inflamatória das folhas de *A. occidentale*, nas avaliações *in vitro* foram encontrados compostos fenólicos totais e flavonoides totais e na técnica de HPLC foram registrados o ácido gálico e catequina, nos extratos etanólicos de caju e cajuí. No estudo *in vivo* foi verificada a capacidade antioxidante e anti-inflamatória, por meio de marcadores de estresse oxidativo e enzimas, análises bioquímicas e histopatológica do fígado, resultando em redução do processo oxidativo e aumento da produção de enzimas antioxidantes, com redução do infiltrado inflamatório (BAPTISTA et al. 2020), esses compostos secundários presentes no extrato podem estar associados as propriedades antioxidante e bactericida verificadas nos atuais resultados.

As atividades antioxidantes variam conforme o tipo de solvente utilizado e o as características sazonais. Este estudo com o extrato bruto de *A. occidentale* sugere boa atividade antioxidante *in vitro* para captura de radicais pelas duas técnicas. A capacidade de captura de radicais pelo DPPH é utilizado para determinar atividade antioxidante em sistema hidrofóbico e ABTS em sistema lipofílico e hidrofílico (VALANTINA, NEELAMEGAN 2015).

A revisão sistemática de Baptista et al. (2018) demonstrou em seus resultados que em 27 estudos o DPPH e o ABTS são as técnicas mais utilizadas para avaliação da capacidade antioxidante *in vitro*, pois são técnicas de fácil execução, eficientes e de baixo custo, e em 16 artigos apresentaram atividade antioxidante em extratos de folhas ou frutos, fibras e óleos de *Anacardium*.

A avaliação antioxidante *in vitro* nas duas plantas foram de valores muito próximos e não houve diferença ($p > 0,05$) quanto à capacidade de sequestro de radicais entre as amostras de caju e cajuí (Tabela 3).

Tabela 3. Média e desvio padrão de DPPH e ABTS encontrados para os extratos de folhas de caju e de cajuí (μmol de trolox/ mg de extrato).

μmol de trolox/ mg de extrato	<i>A. occidentale</i> Caju	<i>A. occidentale</i> Cajuí	Valor de p
DPPH	2,15 \pm 0,086	2,01 \pm 0,037	0,076
ABTS	3,02 \pm 0,16	3,25 \pm 0,17	0,500

Resultados semelhantes a esse estudo foram vistos por Chotphruethipong et al. (2017) que analisaram a capacidade sequestrante de radicais por técnicas de DPPH e ABTS, entre outras técnicas, que demonstraram capacidade antioxidante *in vitro*, utilizando vários solventes extratores em folhas do *A. occidentale*, na Tailândia, obtendo os melhores resultados para o etanol a 80%.

Rajesh et al (2015), analisaram as folhas do *A. occidentale*, extraídos em metanol, e utilizaram a técnica de DPPH para avaliar a atividade antioxidante, resultando em porcentagem de inibição de 94.43 $\mu\text{g}/\text{mL}$, com ação antioxidante menor que o padrão ácido ascórbico. E na avaliação bactericida, por meio da técnica de difusão em discos, apresentou atividade microbiana máxima, com maior zona de inibição, para as cepas de *E.coli*.

A partir de ensaios com outros solventes (acetato de etila, n-hexano, diclorometano e n-butanol) Ajileye et al. (2015) obtiveram extratos e frações de folhas de *A. occidentale*

e utilizaram as técnicas de DPPH e FRAP para testes *in vitro*. Encontraram na fração acetato de etila a maior eficiência para captura dos radicais livres DPPH, IC₅₀ = 5,66 (concentração de antioxidante necessária para inibir 50% do radical). A mistura de quercetina 3-O-rutinoside e quercetina 3-O-rhamnoside, (razão 2: 1) provocou a maior atividade (IC₅₀ = 0,966 ± 0,01 lg / mL). O que demonstra que as folhas possuem ação antioxidante *in vitro*, que difere a partir do tipo de solvente escolhido para a extração.

O resultado da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) em miligramas por mililitros (mg/mL) de cepas bacterianas multirresistentes a partir de extratos etanólicos de folhas de *A. occidentale* (caju e cajuí), está ilustrado na tabela 4. A cepa de *Staphylococcus aureus* apresentou a menor concentração inibitória dos extratos, ou seja, 1,56 mg/mL para o caju e 0,78 mg/mL para o cajuí. A característica de serem cepas multiresistentes proporcionaram resultados que fazem pensar na possibilidade desses extratos serem vistos como uma alternativa terapêutica ou complementar ao quimioterápico.

Tabela 4. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em mg/mL de cepas bacterianas multirresistentes a partir de extratos etanólicos de folhas de *A. occidentale* (caju e cajuí).

Bactéria	Caju	Cajuí
1,5 x 10 ⁸ UFC	mg/mL	mg/mL
<i>Acinetobacter baumannii</i>	3,12	3,12
<i>Escherichia coli</i>	12,5	12,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	100	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,25	12,5
<i>Serratia marcescens</i>	100	50
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,56	0,78

O *S. aureus*, gram positivo, foi a cepa com menor concentração inibitória, justificase pelas características estruturais mais simples em relação às gram negativas. Nesse estudo encontramos a concentração inibitória de 1,56 e 0,78 mg/mL para *A. occidentale* e *A. microcarpum*, respectivamente para a cepa de *Staphylococcus aureus* nos dois extratos, o que sugere a presença de metabólitos capazes de inibir as cepas gram positivas com maior eficiência. Pesquisadores em Cuba verificaram que os extratos etanólicos de folhas de *A. occidentale* foram mais eficientes frente as cepas de *S. aureus*, formando halos de inibição de 8 a 12 mm, por meio da técnica de Bauer e Kirby, em uma concentração do extrato de 50 mg/MI (MARTINEZ-VALVERDE et al. 2000).

O estudo de Dahake et al., (2009) em estudos com extratos etanólicos 70% e éter de petróleo de folhas de *A. occidentale* e demonstraram que o primeiro apresentou maior potencial antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* (20mm) e *Bacillus subtilis* (19mm) e CIM 15,62 µg/mL, o valor de CIM menor que o que encontramos nesse estudo pode ser explicado pela concentração etanólica utilizada e/ou características regionais da Índia que podem proporcionar concentrações diferentes na produção dos metabólitos secundários, mas que corrobora com esse estudo.

Silva et al, (2016) fizeram um estudo similar a este, comparando a ação de flores, cascas e folhas do *A. occidentale*, utilizando o etanol P.A. como solvente. O extrato de folhas apresentou ação microbiana na técnica de inibição por halos e na CIM encontraram concentrações de inibição maiores que encontramos nesse estudo, em mg/mL, para a *E. coli*, *S. aureus*.

Utilizando-se substâncias tânicas isoladas do caule do cajueiro, Pereira et al. (2015), determinaram a concentração inibitória mínima sobre amostras de *Staphylococcus aureus*, no qual encontraram 3,125 µg/ml, com a utilização do metabólito concentrado justifica terem encontrado valores de concentração inferiores aos que encontramos. Os Taninos foram identificados nas amostras de folhas de *A. occidentale* e de *A. microcarpum* neste estudo, metabólito que pode ser um dos princípios ativos presentes nos extratos, responsável pela ação microbiana.

Um estudo realizado por Galvão et al. (2017) com extrato etanólico de *A. occidentale*, determinaram a concentração inibitória mínima e encontraram menor valor para a cepa de *E. coli* (512 µg/ml) ATCC 10536, resultados diferentes deste estudo, provavelmente justificado pelas cepas que foram utilizadas não serem multirresistentes e/ou pela quantidade de metabólitos secundários extraídos no procedimento, podendo, assim, apresentar maior quantidade de compostos com poder germicida.

Sunderam, et al (2019) utilizando nanopartículas AuNPs com extrato seco de folhas de *A. occidentale* demonstraram inibição de crescimento, com formação de halo em meio de cultura, em todas as concentrações testadas (20 e 40 µg/mL) contra cepas de *E. coli* e *Bacillus subtilis*, e concluíram que essa técnica associada ao extrato pode ser seguramente aplicada. Esse estudo demonstra as possibilidades de utilização do extrato e confirma nossos resultados frente a diferentes espécies.

A presença de cepas multirresistentes está relacionada ao uso de uma vasta gama de antimicrobianos nos últimos anos, como o *A. baumannii* presente em muitas infecções

hospitalares, formando biofilmes em superfícies, geralmente por transferência horizontal de genes de resistência (ANTUNES et al. 2014), sendo assim, nossos resultados trazem possibilidades de desenvolver substâncias que podem ser utilizadas como agentes germicidas em superfícies e em tratamentos orgânicos complementares. Os extratos apresentaram atividades antioxidante e antimicrobiana que sugere quantidades importantes de metabólitos secundários com essa ação, em extração por etanol, já verificada em outros estudos de prospecção (SALEHI et al. 2019).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As plantas demonstraram capacidade antioxidante e microbicida *in vitro* dos metabólitos secundários das folhas de *A. occidentale*, a partir dos extratos etanólicos, importantes aliados no tratamento em situações de estresse oxidativo e para ações bactericidas em bactérias resistentes aos antimicrobianos, sugerindo que outros ensaios sejam realizados para confirmar as atividades antioxidantes e microbicidas, e possam ser utilizados nas práticas integrativas e complementares do sistema de saúde Brasileiro. Avançar em avaliações farmacológicas ainda são essenciais para identificar componentes ativos deste extrato e para esclarecer totalmente o seu mecanismo de ação, que podem estar associados a prevenção e tratamento de patologias que estão relacionadas ao estresse oxidativo e a processos infecciosos.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Universidade Federal do Tocantins, a Universidade Federal de Viçosa e a CAPES.

REFERÊNCIAS

A.O.A.C (ed.). **Official methods of analysis**. 15. ed. Washington, D.C: Association Of Official Analytical Chemists, 1990. 1298 p.

AJILEYE, O.O.; OBUOTOR, E.M.; AKINKUNMI, E.O.; ADEROGBA, M.A.. Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from *Anacardium occidentale* L. (*Anacardiaceae*) leaf extract. **Journal Of King Saud University - Science**, [S.L.], v. 27,

n. 3, p. 244-252, jul. 2015.

ALVES, M. S. O.; ALVES A.M.; NAVES, M.M.V. Compostos bioativos e atividade antioxidante de pseudofrutos de caju arbóreo do Cerrado. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [s. l.], v. 72, n. 4, p. 327-331, 2013.

ANTUNES, L. C.s.; VISCA, P.; TOWNER, K. J. *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. **Pathogens And Disease**, [S.L.], v. 71, n. 3, p. 292-301, 27 jan. 2014. Oxford University Press (OUP).

AYCAN, I. O.; CELEN, M. K.; YILMAZ, A.; ALMAZ, M. S.; DAL, Tuba; CELIK, Y.; BOLAT, E.. Colonização bacteriana por causa do aumento da carga de trabalho da equipe de enfermagem em unidade de terapia intensiva. **Brazilian Journal Of Anesthesiology**, [S.L.], v. 65, n. 3, p. 180-185, maio 2015.

BAPTISTA, A. B.; SARANDY, Mariáurea M.; GONÇALVES, R. V.; NOVAES, R. D.; COSTA, C. G. da; LEITE, J.P. V.; PELUZIO, M. do C. G. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Anacardium occidentale* L. and *Anacardium microcarpum* D. Extracts on the Liver of IL-10 Knockout Mice. **Evidence-Based Complementary And Alternative Medicine**, [S.L.], v. 2020, p. 1-13, 7, dez 2020.

BAPTISTA, A.B.; GONÇALVES, R. V.; BRESSAN, J.; P., M. do C. G. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Crude Extracts and Fractions of Cashew (*Anacardium occidentale* L.), Cajui (*Anacardium microcarpum*), and Pequi (*Caryocar brasiliense* C.): a systematic review. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, [S.L.], v. 2018, p. 1-13, 2018.

BARBOSA FILHO, V. M.; WACZUK, E. P.; KAMDEM, J. P.; ABOLAJI, A. O.; LACERDA, S. R.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; ROCHA, J. B. T. Phytochemical constituents, antioxidant activity, cytotoxicity and osmotic fragility effects of Caju (*Anacardium microcarpum*). **Industrial Crops And Products**, [S.L.], v. 55, p. 280-288, abr. 2014.

BAUER, A.W. Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. **American Journal Clinical Patology**, v. 45, n.4, p. 493–496, 1966.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.e.; BERSET, C.. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lwt - Food Science And Technology**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 25-30, jan. 1995.

CARVALHO, A.F.; SILVA, D.M.; SILVA, T.R.C; SCARCELLI, E.; MANHANI, M.R.. Avaliação da atividade antibacteriana de extratos etanólico e de ciclohexano a partir das flores de camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 16, n. 3, p. 521-526, set. 2014.

CHOTPHRUETHIPONG, L.; BENJAKUL, S.; KIJROONGROJANA, K.. Optimization of extraction of antioxidative phenolic compounds from cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves using response surface methodology. **Journal Of Food Biochemistry**, [S.L.], v. 41, n. 4, p. 12379, 17 abr. 2017.

CNCFLORA. *Anacardium humile* in **Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora**. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Anacardium humile](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Anacardium%20humile)>. Acesso em 11 junho 2021.

CZELUSNIAK, K.e.; BROCCO, A.; PEREIRA, D.F.; FREITAS, G.B.L.. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *mikania glomerata sprengel* e *mikania laevigata schulyz bip. ex baker*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [S.L.], v. 14, n. 2, p. 400-409, 2012.

DAHAKI, A.P.; JOSHI, V.D.; JOSHI, A.B. Antimicrobial Screening of Different Extract of *Anacardium occidentale* Linn. Leaves. **International Journal Chem Tech Research**, v. 1, n. 4, p. 856-858, 2009.

ELLER, S.C.W.S.; FEITOSA, V.; ARRUDA, T.A.; ANTUNES, R.M.P. Avaliação antimicrobiana de extratos vegetais e possível interação farmacológica in vitro. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas**, v. 36, n. 1, p. 131-136. 2015.

FERREIRA, L.A.; MIRANDA, M.C.; BARBASTEFANO, V.; LIMA, C.A.H.; VILEGAS, W.; BRITO, A.R.M.S. Should *Anacardium humile* St. Hil be used as an antiulcer agent? A scientific approach to the traditional knowledge. **Fitoterapia**, v. 79, p. 207–209, 2008.

GALVÃO, J.N., ARAÚJO, A.C.J.; MANGUEIRA, C.E.A.; PEREIRA, E.A.; RODRIGUES, E.A., PEREIRA, J.T., et al. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória do extrato etanólico de *Anacardium occidentale* Linn. **Revista Interfaces**, v. 5, n.15, p. 44-47, 2017.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. . **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 3. ed. São Paulo: Imprensa Oficial do Estado de São Paulo (Imesp), 1985. 21 p.

MARINI-BETTÒLO, G.B.; NICOLETTI, M.; PATAMIA, M.; GALEFFI, C.; MESSANA, I.. Plant screening by chemical and chromatographic procedures under field conditions. **Journal Of Chromatography A**, [S.L.], v. 213, n. 1, p. 113-127, ago. 1981.

MARTÍNEZ AGUILAR, Y.; SOTO RODRÍGUEZ, F.; ALMEIDA SAAVEDRA, M.; HERMOSILLA ESPINOSA, R.; MARTÍNEZ YERO, O. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, [s. l], v. 17, n. 4, p. 320-329, 2012.

MARTINEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. **Archivose Latinoamericanos de Nutrición**, v. 50, n. 1, p. 5-18, 2000.

MENDES, M. K. de A.; OLIVEIRA, C. B. S.; VERAS, M. D. A.; ARAUJO, B. Q.; DANTAS, C.; CHAVES, M. H.; LOPES JÚNIOR, C. A.; VIEIRA, E. C. Application of multivariate optimization for the selective extraction of phenolic compounds in cashew nuts (*Anacardium occidentale* L.). **Talanta**, [S.L.], v. 205, p. 120100, dez. 2019.

MOGHADDAM, N.S.; ERYILMAZ, M.; ALTANLAR, N.; YILDIRIN, O. Antimicrobial screening of some selected Turkish medicinal plants. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 32, n. 3, p.947-951, 2019.

MONTEIRO, B.S; MATIAS, W.N.; LIBERATO, K.B.C.; SILVA, D.R.; LUCENA, G.T.S.; FEITOZA, G.S.; BRITO, S.A. Evaluation of the antioxidant and gastroprotective activity of leaves and juice of *Anacardium Occidentale*. **JAPHAC**, v. 7, p. 266-278, 2020.

MOREIRA, R.C.T.; COSTA, L.C.B.; COSTA, R.C.S.; ROCHA, E.A. Abordagem Etnobotânica acerca do Uso de Plantas Mediciniais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 21, n.3, p. 205-11, 2002.

MÜLLER, K.R.; MARTINS, I.K.; RODRIGUES, N.R.; DA CRUZ, L.C.; BARBOSA FILHO, V.M.; MACEDO, G.E., et al. Anacardium microcarpum extract and fractions protect against paraquat-induced toxicity in Drosophila melanogaster. **EXCLI Journal**, Mar v. 20, n.16, p. 302-312, 2017.

PEREIRA, A.V.; AZEVEDO, T.K.B.; HIGINO, S.S.S.; SANTANA, G.M.; TREVISAN, L.F.A.; AZEVEDO, S.S., et al. Taninos da casca do Cajueiro: atividade antimicrobiana. **Revista Agrotec**, v. 36, n.1, p. 121-127, 2015.

PEREIRA, R.C.; SOUSA, M.V.S.; MACÊDO, M.O.C.; VIANA, V.G.F.; MACÊDO, H.R.A. Caracterização de filmes de quitosana produzidos a partir da incorporação de extrato de *Anacardium microcarpum* ducke. **Brazilian Journal Development**, v.7, n.5, p. 51376-51394, 2021.

RAJESH, B.R.; POTTY, V.P.; PRABHA, K.C.; MIRANDA, M.T.P. Sreelekshmy S.G. Antioxidant and antimicrobial activity of leaves of Terminalia catappa and Anacardium occidentale: A comparative study. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 4, n.1, p. 79-82, 2015.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C.. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology And Medicine**, [S.L.], v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, maio 1999.

RODRÍGUEZ, Ó.; GOMES, Wesley F.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F. A.N.. Effect of indirect cold plasma treatment on cashew apple juice (*Anacardium occidentale* L.). **Lwt**, [S.L.], v. 84, p. 457-463, out. 2017.

ROSE, D. D.; PEZZOTTI, P.; FONTANA, C.; ALTIERI, A.; MINELLI, S.; MARIOTTI, B.; CERRETTI, R.; LEONI, D.; ANDREONI, M.; SARMATI, L. An in-depth analysis of nosocomial bloodstream infections due to Gram-negative bacilli: clinical features, microbiological characteristics and predictors of mortality in a 1 year, prospective study in a large tertiary care italian hospital. **Infectious Diseases**, [S.L.], v. 51, n. 1, p. 12-22, 28 dez. 2018.

SALEHI B.; GÜLTEKIN-ÖZGÜVEN, M.; KIRKIN, C.; ÖZÇELIK, B.; MORAIS-BRAGA, M.F.B; CARNEIRO, J.N.P.; et al. Anacardium Plants: chemical, nutritional composition and biotechnological applications. **Biomolecules**, [S.L.], v. 9, n. 9, p. 465, 9 set. 2019.

SALEHI, B.; GÜLTEKIN-ÖZGÜVEN, M.; KIRKIN, C.; ÖZÇELIK, B.; MORAIS-BRAGA, M.F.B.; CARNEIRO, J.N.P., et al. Antioxidant, Antimicrobial, and Anticancer Effects of Anacardium Plants: An Ethnopharmacological Perspective. **Frontiers Endocrinology**, (Lausanne), Jun v. 12, n.11, p. 295, 2020.

SANTOS, G. H.F.; AMARAL, A.; SILVA, E. B. Antibacterial activity of irradiated extracts of *Anacardium occidentale* L. on multiresistant strains of Staphylococcus aureus. **Applied Radiation And Isotopes**, [S.L.], v. 140, p. 327-332, out. 2018.

SILVA, R. A.; LIBERIO, S. A.; AMARAL, F. M. M. do; NASCIMENTO, F. R.F.; TORRES, L.M.B.; MONTEIRO NETO, V.; GUERRA, R. N.M. Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Anacardium occidentale* L. Flowers in Comparison to Bark and Leaves Extracts. **Journal Of Biosciences And Medicines**, [S.L.], v. 04, n. 04, p. 87-99, 2016.

SOARES, J.A.S.; ALKMIN, A.C.; OLIVEIRA, D.R.; MENDONÇA, S.A.M.; RODRIGUES, I.V.

Potencialidades da Prática de Atenção farmacêutica no uso de Fitoterápicos e plantas medicinais. 2020; JAPHAC (7): 10-21

STAHL, E. **Analyse chromatographique et microscopique des drogues.** Paris: Tech. Et Doc. 1971.

SUFFEDRINI, I.B.; VARELA, A.D.; YOUNES, R.N. Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima de três extratos vegetais antibacterianos selecionados da Floresta Amazônica e da Mata Atlântica brasileiras. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde.** v. 25, n.2, p.127-9, 2007.

SUNDERAN, V.; THYIAGARAJAN, D.; LAWRENCE, A.V.; MOHAMMED, S.S.S.; SELVARAJ, A. In-vitro antimicrobial and anticancer properties of green synthesized gold nanoparticles using *Anacardium occidentale* leaves extract. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 26, n.3, p. 455-459, 2019.

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

VALANTINA, R. AND NEELAMEGAM, P. Selective ABTS and DPPH radical scavenging activity of peroxide from vegetable oils. **International Food Research Journal.** v. 22, p. 289–294, 2015.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas.** 2^a ed. Berlin: Springer.384p. 1996.

XIU-QIN, Li; CHAO, Ji; YAN-YAN, Sun; MIN-LI, Yang; XIAO-GANG, Chu. Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. **Food Chemistry**, [S.L.], v. 113, n. 2, p. 692-700, mar. 2009.