UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA

CAIO EVERTON NUNES DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *Anacardium occidentale* L. E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA *Escherichia coli*

Recife
2023

CAIO EVERTON NUNES DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *Anacardium occidentale* L. E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA *Escherichia coli*

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federa de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão

Recife

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Caio Everton Nunes da.

Caracterização do extrato aquoso de folhas de Anacardium occidentale L. e atividade antibacteriana contra Escherichia coli / Caio Everton Nunes da Silva. - Recife, 2023.
35, tab.

Orientador(a): Thiago Henrique Napoleão

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2023.

1. Fitoterapia. 2. Lectina. 3. Protease. 4. Fenol. 5. Tanino. I. Napoleão, Thiago Henrique. (Orientação). II. Título.

570 CDD (22.ed.)

CAIO EVERTON NUNES DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *Anacardium occidentale* L. E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA *Escherichia coli*

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federa de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: ___ / ___ / _____

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Thiago Henrique Napoleão (Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Dr. Carlos Eduardo Sales da Silva

Universidade Federal de Pernambuco

_____

MSc. Patryck Érmerson Monteiro dos Santos

Universidade Federal de Pernambuco

Ao meu pai, Carlos Alberto Nunes dos Santos, que fazia questão de sempre demonstrar seu orgulho por mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que fizeram parte da minha longa jornada acadêmica. À minha mãe, que me deu total suporte durante todos esses anos. Ao meu pai que me incentivava a todo instante e me fazia sentir especial por estar numa graduação de biologia. À minha irmã, que é minha melhor e minha maior companheira.

Agradeço também ao professor Thiago por me acolher no BIOPROT num momento delicado que eu estava passando. Sou muito grato pela sua orientação, e por dedicar seu tempo para que eu conseguisse concluir o curso. Aos colegas do laboratório também que tornaram minha cansativa rotina mais agradável.

Aos meus amigos Kaciano, Laiana, Luana, Mariana, Italo e Vanessa que atuaram diretamente no meu sucesso dentro do curso, se não fosse por eles talvez não tivesse conseguido terminá-lo. Vocês valem ouro!

Aos meus amigos de fora do curso, Samanta, Carol e Rhaldney, que me deram suporte em momentos difíceis e sempre foram ótimos companheiros para a vida.

Às minhas amorosas gatas, Amora, Mia, Mel, Clara, Lunala, Omalina, João das Neves, Ronaldinho, Sabrina, Neymar, Ritinha, Olivia, Sabrino, Apolinário, Amélia, Garotinha, Fofocalice, Oliver, que fizeram e fazem eu me sentir o melhor pai de pet do mundo.

À Patryck, Carlos Eduardo e Robson por aceitarem fazer parte do meu trabalho, integrando a banca examinadora. À Poli por ter ajudado a elaborar os experimentos microbianos.

E um agradecimento especial à Lili, que foi um verdadeiro mestre pra mim e me ajudou em praticamente tudo. Com certeza lembrarei disso quando olhar o meu diploma.

RESUMO

A saúde pública é um problema persistente no país, envolvendo principalmente a população mais carente e que reside em regiões com maiores desigualdades sociais, como o Nordeste brasileiro. A *Anacardium occidentale* é uma espécie tropical, encontrada em vários países, originada do Nordeste do Brasil. Possui grande poder terapêutico e tem sido utilizada para tratamento de doenças por diversas comunidades tradicionais, principalmente através do extrato das folhas. A *Escherichia coli* é uma espécie de bactéria gram-negativa que causa desordens no sistema gastrointestinal do ser humano, sendo resistente a diversos antibióticos, tornando-a um problema de saúde pública. Neste trabalho, foi realizada a caracterização do extrato aquoso de folhas de *A. occidentale* na concentração de 5% através do método de maceração. Foram determinadas a dosagem proteica, a dosagem fenólica total e de taninos. Foi realizada a investigação da presença de lectinas por meio da atividade hemaglutinante (AH) e da presença de proteases pela atividade proteolítica total. Também foi avaliada a atividade hemolítica utilizando eritrócitos humanos com o extrato na concentração de 14 mg/ml. Foi investigado os efeitos bacteriostática e bactericida do extrato contra isolado de *E. coli*. A dosagem de proteína foi de 10,8 mg/ml, a de fenóis totais foi de 28,33 mg EAT/g e o teor de taninos foi de 28,33 mg EAT/g. Houve aglutinação de eritrócitos com o extrato na AH e foi inibido por azocaseína, caseína, albumina, glicose e galactose, resultando em 0,75, 0,75, 0,75, 189,63, 189,63 Título(-1)/mg/ml, respectivamente, nos valores da atividade hemaglutinante específica (AHE), indicando a presença de lectinas no extrato. A atividade proteolítica indicou a presença de proteases, com o resultado de 0,898 U. Não foi detectada atividade hemolítica. A atividade antibacteriana contra *E. coli* foi positiva, apresentando ambos CMI e CMB de 1,06 mg/ml, demonstrando potencial bactericida. O extrato de folhas de *Anacardium occidentale* se mostrou uma ótima fonte de estudo para tratamento antibacteriano complementar e fitoterapia.

Palavras-chave: antibacteriano; lectinas; fitoterapia.

ABSTRACT

Public health is a persistent problem in the country, mainly involving the poorest population living in regions with greater social inequalities, such as the Brazilian Northeast. *Anacardium occidentale* is a tropical species, found in several countries, originating in Northeast Brazil. It has great therapeutic power and has been used to treat diseases by various traditional communities, mainly through the extract of the leaves. *Escherichia coli* is a kind of gram-negative bacteria that causes disorders in the human gastrointestinal system, being resistant to several antibiotics, making it a public health problem. In this work, the aqueous extract of leaves of *A. occidentale* was characterized at a concentration of 5% through the maceration method. Protein dosage, total phenolic dosage and tannin dosage were determined. The investigation of the presence of lectins was carried out through the hemagglutinating activity (AH) and the presence of proteases through the total proteolytic activity. The hemolytic activity was also evaluated using human erythrocytes with the extract at a concentration of 14 mg/ml. The bacteriostatic and bactericidal effects of the extract against *E. coli* isolates were investigated. The protein dosage was 10.8 mg/ml, the total phenols was 28.33 mg EAT/g and the tannin content was 28.33 mg EAT/g. There was agglutination of erythrocytes with the extract in the AH and it was inhibited by azocasein, casein, albumin, glucose and galactose, resulting in 0.75, 0.75, 0.75, 189.63, 189.63 Title(-1)/mg/ml, respectively, in the specific hemagglutinating activity (AHE) values, indicating the presence of lectins in the extract. Proteolytic activity indicated the presence of proteases, with a result of 0.898 U. No hemolytic activity was detected. Antibacterial activity against *E. coli* was positive, with both MIC and MBC of 1.06 mg/ml, demonstrating bactericidal potential. *Anacardium occidentale* leaf extract proved to be a great source of study for complementary antibacterial treatment and phytotherapy.

Keywords: antibacterial; lectins; phytotheraphy.

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO**	**9**
1.1	OBJETIVOS	11
1.1.1	**Objetivo geral**	**11**
1.1.2	**Objetivos específicos**	**11**
2	**REFERENCIAL TEÓRICO**	**12**
2.1	*Anacardium occidentale*	12
2.2	ETNOFARMACOLOGIA de *A. occidentale*	13
2.3	*Escherichia coli*	15
2.4	LECTINAS	15
3	**METODOLOGIA**	**17**
3.1	MATERIAL BOTÂNICO E EXTRAÇÃO	17
3.2	DOSAGEM DE PROTEÍNAS	17
3.3	ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE E ENSAIO DE INIBIÇÃO	17
3.4	DOSAGEM DE FENÓIS TOTAIS E DE TANINOS	18
3.5	ATIVIDADE HEMOLÍTICA	19
3.6	ATIVIDADE PROTEOLÍTICA	19
3.7	LINHAGEM MICROBIANA, CONDIÇÕES DE CULTIVO E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	20
3.8	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA E MÍNIMA BACTERICIDA	20
4	**RESULTADOS E DISCUSSÃO**	**22**
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO	22
4.1.1	**Determinação da quantidade de proteínas totais**	**22**
4.1.2	**Determinação da atividade hemaglutinante e inibição por carboidratos**	**22**
4.1.3	**Dosagem de fenol total**	**23**
4.1.4	**Determinação da atividade proteolítica total**	**23**
4.1.5	**Atividade hemolítica**	**24**
4.2	ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	24
5	**CONCLUSÃO**	**26**
	REFERÊNCIAS	**27**

1 INTRODUÇÃO

Apesar de ter uma das maiores economias do mundo, o Brasil ainda está longe de atingir os níveis de saúde vigentes em nações desenvolvidas. A saúde pública é um dos aspectos que permanece um problema, mesmo encontrando progresso nos últimos anos, como com a implantação do Sistema Único de Saúde (SUS) (VICTORA, 2011; PAIM, 2004). A presente desigualdade social implica diretamente no acesso aos serviços de saúde, sendo insatisfatória para famílias que têm baixo poder aquisitivo. Atrelado a esse fato, essa deficiência impacta negativamente em sua produtividade no trabalho devido à debilidade na saúde, que, por sua vez, dificulta o crescimento financeiro, gerando um ciclo de difícil resolução (NERI; SOARES, 2002).

O Brasil possui registro do uso de Medicina Tradicional e Complementar no SUS desde a década de 1980, que foi intensificada após a criação da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (SOUSA; TESSER, 2017). Dentre as práticas ofertadas, a fitoterapia ganha destaque. Sendo historicamente conhecida e empregada, a utilização de plantas com finalidade terapêutica tem sido observada em diversas culturas em todo o mundo (TREVISAN; SEIBERT; SANTOS, 2021). A Organização Mundial da Saúde reconhece a importância dessa prática como uma alternativa viável devido seu baixo custo, sendo significante para populações de países em desenvolvimento, como é o caso do Brasil (REZENDE; COCCO, 2002). No país, mais de 70 espécies de vegetais constam na Relação Nacional de Plantas de Interesse ao SUS (RENISUS). O objetivo dessa lista é fortalecer as pesquisas e divulgar informações envolvendo plantas medicinais nativas (CARVALHO, 2011).

Uma representante dessa lista é a espécie *Anacardium occidentale* L., o cajueiro, é nativa da região Nordeste brasileiro e disseminada por todas as regiões tropicais do mundo. Seu potencial terapêutico tem sido utilizado por séculos em comunidades tradicionais, além de ser uma espécie de grande importância econômica, principalmente nos estados do Ceará, Rio Grande do Norte e Piauí (CHAVES et al., 2010). Possui diversos efeitos benéficos, como antioxidante, antitumoral, anti-inflamatório e antimicrobiano, sendo utilizada para tratamento de várias doenças e desordens fisiológicas (RUNJALA; KELLA, 2017).

A utilização de extratos vegetais são formas efetivas para fins farmacológicos. Para que seja realizado seu consumo, é preciso um rigoroso estudo da planta, de forma qualitativa e quantitativa, com ênfase em sua composição, através da caracterização das biomoléculas, que são as responsáveis pelos seus efeitos terapêuticos (BANOV et al., 2006).

A *Escherichia coli*, espécie de bactéria gram-negativa, pertencente à família Enterobacteriaceae, é uma das principais causas de disfunções gastrointestinais do mundo. Acomete o sistema gastrointestinal através da contaminação, muitas vezes fecal, da água e alimentos, tornando as populações carentes um grande alvo pela falta de saneamento básico, sendo tratada como um problema de saúde pública desde 1982. Também é responsável por cerca de 75% das infecções no trato urinário, podendo causar infecções sistêmicas. Seu tratamento inclui reidratação e utilização de antibiótico (MITTELSTAEDT; CARVALHO, 2006) (TORTORA, 2016).

Mesmo ocasionando redução na mortalidade por doenças microbianas por vários anos, o uso indiscriminado e constante de antibiótico vem promovendo resistência bacteriana através da seleção de indivíduos resistentes, interferindo no tratamento contra esses agentes infecciosos devido à menor eficácia da droga, representando um potencial de risco à saúde pública (BACCARO et al., 2001) (COUTINHO et al., 2015). Dessa forma, o desenvolvimento e utilização de métodos medicinais alternativos e complementares se mostram importantes para atender essa demanda.

Estudos sobre efeito de extratos de *A. occidentale* contra bactérias, incluindo *E. coli*, indicaram ação antibacteriana. Porém, não há estudos que envolvam o extrato aquoso de folhas relacionados à concentração mínima inibitória (CMI) e concentração mínima bactericida (CMB). Assim, por ser uma espécie de planta nativa e de grande acessibilidade pela população brasileira, estudar a *A. occidentale* se torna opção necessária para fins de combate e tratamento de enfermidades, visto seu alto poder terapêutico e o constante problema de saúde pública presente no país, evidenciando a importância do conhecimento e desenvolvimento de pesquisa para sua devida utilização, de forma comprovada e segura, em benefício da população, principalmente as mais carentes.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Caracterizar extrato aquoso de folhas de *Anacardium occidentale* e investigar seu potencial antibacteriano contra *Escherichia coli*.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a concentração de proteínas e fenóis totais no extrato aquoso de *A. occidentale*;
- Avaliar a presença de lectinas no extrato;
- Investigar a presença de proteases no extrato;
- Avaliar a atividade hemolítica do extrato;
- Investigar efeitos bacteriostática e bactericida do extrato contra isolado de *E. coli*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Anacardium occidentale*

Pertencente à família Anacardiaceae, que possui 70 gêneros e 600 espécies, a *A. occidentale* é uma espécie vegetal tropical, popularmente conhecida como cajueiro (LEITE et al., 2016). É uma árvore de porte pequeno, perene, ramificada, com copa baixa e extensa. Cresce em diferentes tamanhos, mas normalmente atinge entre 8 e 15 metros. A sua casca é marrom ou cinza, com diâmetro entre 25 e 40 cm, lisa ou áspera, com grande e profundo sistema radicular. Possui folhas simples e alternadas, de formas ovais ou obovais, coriáceas, glabro (LORENZI, 2008). Na juventude, as folhas são róseas e maleáveis, amadurecendo para verde-escuro, com 9 a 14 pares de nervuras laterais, amarelas proeminentes, com pecíolos curtos (TAN; CHAN, 2014; LIM, 2012). As flores são vináceas, dispostas em panículas terminais, tornando-se rosa-avermelhadas e vermelha-escuras depois da fertilização; a inflorescência comumente é formada por flores masculinas, femininas e hermafroditas (LIM, 2012).

Seus frutos são compostos de duas partes, a castanha (fruta propriamente dita) e o pseudofruto, conhecido como caju (SOUZA et al., 2017). O caju possui forma de rim, de cor alaranjada, vermelha ou amarelada, com consistência mole e suculenta, presas à extremidade distal de um receptáculo. A castanha é verde, tornando-se escura quando madura (LIM, 2012; TAN; CHAN, 2017).

Originada no Brasil, mais precisamente no Nordeste, ocorre principalmente nos estados de Pernambuco, Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, sendo sua origem da restinga, ocorrendo naturalmente na Caatinga, Cerrados e biomas amazônicos (ASSUNÇÃO; MERCADANTE, 2003). É encontrada em várias partes do planeta, como Vietnã, Índia, Nigéria, Indonésia, Filipinas, Benim, Guiné-Bissau e Costa do Marfim (BRITO; SILVA; RODRIGUES, 2018).

Amplamente consumido, especialmente no nordeste do Brasil, o caju possui diversas utilizações. A principal é como alimento, seja consumido *in natura* ou na forma de suco, processado ou fresco, movimentando bastante a indústria alimentícia (SALEHI et al., 2020). Além do pseudofruto, a castanha também é utilizada para consumo devido seu alto valor energético e nutricional (MELO, 2021). Outros subprodutos que movimentam a economia estão os doces, refrigerantes e vinhos

derivados do pseudofruto; ração animal derivada do bagaço; na indústria de tinta, extraindo o líquido da castanha; além de taninos, que são extraídos de vários locais da planta. Essas aplicações somadas chegam a aproximadamente 30 subprodutos formados, mostrando a importância econômica que a espécie possui (ALMEIDA et al., 2017) (NUNES et al., 2013).

Em 2015, foi apontado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) que mais de 100 mil toneladas de caju foram colhidas, onde mais de 99% foram na região Nordeste. A região Sudeste do Brasil aumentou significativamente o consumo de caju em seu mercado interno, atraindo investimentos, expandindo e modernizando o sistema de produção (ARAÚJO et al., 2010). A maior parte da produção é feita por pequenos produtores, e a colheita acontece na entressafra de outras produções, contribuindo para a permanência dos trabalhadores no campo. Também gera aproximadamente 55 milhões de empregos por ano (ALMEIDA et al., 2017).

2.2 ETNOFARMACOLOGIA DE *A. occidentale*

Investigar o potencial terapêutico de plantas utilizadas por populações tradicionais é um bom atalho para encontrar alternativas para tratamento de doenças e problemas de saúde pública, uma vez que possuem grande acessibilidade por parte da população, comumente sem grande poder econômico e que já são utilizadas há tempo considerável por estarem inseridas em seu meio cultural e social (ARAÚJO et al, 2020). Dessa forma, as plantas medicinais são uma ótima fonte de material de pesquisa para desenvolvimento de fármacos e drogas modernas (PADILHA et al., 2020).

A *A. occidentale* está presente no Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos do Ministério da Saúde. É uma das 71 espécies encontradas no RENISUS, que tem por objetivo estudar e investigar plantas com potenciais terapêuticos para que sejam utilizadas de forma segura e racional pela população brasileira (BRASIL, 2016).

De uma forma geral, a *Anacardium occidentale* possui potencial bactericida, fungicida, vermicida, amebicida, antioxidante, anti-inflamatório e anti-ulcerogênico, atrelado ao seu uso medicinal, seja pelas raízes, folhas, flores ou frutas. Devido a

essas propriedades biológicas, é utilizada por séculos para tratamento de doenças, principalmente com o extrato das folhas (ALEXANDRE, 2013; AJILEYE et al., 2015).

No Brasil e África ocidental, são usadas espécies do gênero *Anacardium* como infusão para curar doenças e para tratamento de enfermidades cardiovasculares e gastrointestinais. Também são usadas no combate e prevenção de eczema, doenças venéreas, problemas genitais, impotência, bronquite e asma (SALEHI et al, 2020; TAN; CHAN, 2014).

De todas as partes, é possível extrair vários metabólitos secundários que possuem poder medicinal. O caju é rico em minerais e vitaminas, principalmente a C, que é responsável pelo potencial antioxidante (RUFINO et al., 2009); além de possuir compostos voláteis como terpenos, ésteres e ácido carboxílico; também é fonte de lipídios, principalmente insaturados; ácido oleico e linoleico, e flavonoides e carotenoides. As folhas e a castanha, ricas em taninos, também possuem atividade antioxidante. O líquido comercial da casca da castanha é uma mistura de alquilfenóis, como cardanol e cardol. (THOMAS; BARBOSA FILHO, 1985; BICALHO; REZENDE, 2001; SOUZA et al., 2017; TK, 2012).

Os ácidos anacárdicos são compostos característicos da espécie. Eles estão associados a propriedades anestésicas, bactericida e inseticida (SOUZA et al. 2017). Além disso, estão envolvidos com a inibição de metástase, através da diminuição da atividade das metaloproteinases (OMANAKUTAN et al., 2012). Também regulam a atividade das histonas desacetilases, que modulam a expressão gênica das células, atuando também na diferenciação e proliferação celular (SUN et al., 2006). Os efeitos antioxidantes dos extratos da planta atuam contra o desenvolvimento de câncer, doenças degenerativas e cardiovasculares através da atenuação dos níveis de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, também associados a vias inflamatórias (SOUZA et al., 2017).

Em 2017, Chan et al. abordaram em sua revisão bibliográfica a atividade antimicrobiana de extratos de folha, flor e casca da *A. occidentale*, contra fungos e bactérias, gram-positivas e gram-negativas. As substâncias bioativas responsáveis por essa atividade na planta são extraídas devido à sua capacidade de dissolução, sendo encontrados em diferentes níveis dependendo da parte da planta e do solvente utilizado (THOMAS et al., 2015).

2.3 *Escherichia coli*

Dentre as espécies de bactérias gram-negativas, a *Escherichia coli*, pertencente à família Enterobacteriaceae, se destaca por estar envolvida em uma série de distúrbios gastrointestinais que aflige o ser humano, trazendo um problema de saúde pública para diversas populações, principalmente as mais carentes, devido à limitação ou ausência de sistema de saneamento básico, permitindo a contaminação de água e alimentos (MELO et al., 2018). Essa contaminação é revelada em altos índices e em diversas partes do país, com destaque para as regiões de semiárido, que necessitam de fontes de água alternativas para os períodos de seca (CAVALCANTE, 2014).

Os antibióticos são a forma mais utilizada para controle de infecções bacterianas, muitas vezes sendo utilizados de forma errada, sem prescrição médica ou sem seguir a receita corretamente, conferindo brecha para os microrganismos adquirirem resistência. Os compostos antimicrobianos encontrados nos antibióticos são naturalmente produzidos por bactérias como forma de competir com outras espécies por recursos do ambiente. Assim, o mau uso dos antibióticos acaba acelerando a seleção de indivíduos resistentes, que se reproduzem e passam para frente essas características (COSTA; JUNIOR, 2017). Os compostos antimicrobianos podem agir por inativação enzimática, alterações no sítio de ativação e alterações na permeabilidade. A família Enterobacteriaceae já possui alta resistência a vários fármacos, como trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina, cloranfenicol ácido nalidíxico e ampicilina, que é um beta-lactâmico, uma ampla classe de antibióticos, sendo a mais usada dentre as demais (MOSQUITO et al, 2011).

2.4 LECTINAS

As lectinas são proteínas capazes de se ligar a carboidratos, de forma reversível e com especificidade considerável, podendo atuar na inibição do crescimento ou morte de bactérias pela interação com os carboidratos de sua superfície celular, alterando a permeabilidade (DRESCH et al., 2005). São classificadas dependendo do seu tipo de sítio de ligação a carboidratos; as merolectinas possuem apenas um sítio de ligação; as hololectinas possuem pelo menos dois sítios de ligação a um carboidrato específico; as superlectinas possuem

pelo menos dois sítios de ligação a carboidratos distintos; e as quimerolectinas pelo menos um sítio de ligação e um sítio catalítico, que agem de forma independente. Nas plantas, as mais conhecidas são as hololectinas, capazes de aglutinar células, como as hemácias, através de malhas de aglutinação, característica utilizada como teste para detectar presença de lectinas (PEUMANS; DAMME, 1998).

Servem para mediar eventos de reconhecimento biológico e são encontradas em diversos organismos. Nos vegetais são conhecidas por afastar predadores e patógenos. Devido à sua capacidade de reconhecimento e interação, as lectinas podem agir como agentes antimicrobianos de diversas formas, através da aglutinação das células microbianas, imobilizando-as; bloqueando locais de interação do microrganismo com a célula hospedeira; alterando a permeabilidade da membrana celular da bactéria, interferindo na absorção de nutrientes e nos receptores de membrana (SOUZA et al., 2021). Portanto, investigar indícios de novas lectinas em extratos de plantas se torna um importante método para desenvolvimento de estratégia no combate desses agentes infecciosos.

3 METODOLOGIA

3.1 MATERIAL BOTÂNICO E EXTRAÇÃO

As folhas foram coletadas em dois indivíduos localizados no Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Pernambuco. Foram coletadas apenas folhas maduras a fim de manter uma padronização no estudo. Então, foram higienizadas com água corrente e álcool 70% e tiveram sua venação central removida. Em seguida, foram mantidas numa estufa de secagem por 7 dias a 45º C. As folhas secas foram trituradas até que os fragmentos estivessem com um tamanho menor que 3 mm. Ao pó das folhas, foi adicionando água destilada, numa proporção de 5% (m/v) e a suspensão foi homogeneizada com auxílio de agitador magnético pelo período de 16 horas. Após isso, foi centrifugada, o precipitado foi removido através de filtragem e o sobrenadante foi armazenado em *freezer* para futuras análises. Dois extratos diferentes foram preparados em intervalo de meses entre eles, utilizando os mesmos indivíduos

3.2 DOSAGEM DE PROTEÍNAS

Foi empregada a metodologia descrita por Lowry et al. (1951), utilizando uma curva padrão de albumina sérica bovina (31,25 a 500 µg/ml). As amostras foram adicionadas (200 µl) a 1 ml de solução C [composta por 50 partes de solução A (2% de carbonato de sódio e 0,1% de hidróxido de sódio) para 1 parte de solução B (0,5% de sulfato de cobre e 1% de citrato de sódio], seguida de leve agitação e incubadas por 10 min a 25º C. Então, foram adicionados 100 µl do reagente de Folin-Ciocalteu, diluído 1:1 com água destilada, e o ensaio incubado novamente por 45 min. Por fim, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 720 nm.

3.3 ATIVIDADE HEMAGLUTINANTE E ENSAIO DE INIBIÇÃO

A atividade hemaglutinante foi determinada através da técnica estabelecida por Paiva e Coelho (1992). Foi efetuada em microplaca de titulação com fundo em “V”, adicionando-se 50 µl cloreto de sódio (NaCl) 0,15 M aos poços utilizados da microplaca. Então, foram adicionados 50 µl da amostra a partir do 2º poço,

realizando diluição seriada nos demais poços, seguida pela adição de 50 µl de solução de eritrócitos de coelho em todos os poços utilizados. A microplaca foi mantida em repouso por 45 minutos. O inverso do título correspondente à maior diluição com aglutinação define a atividade hemaglutinante (AH). A atividade hemaglutinante específica (AHE) pode ser calculada através da seguinte equação:

$$AHE = \frac{AH}{Dosagem\ de\ proteínas\left(\frac{mg}{ml}\right)}$$

O ensaio de inibição da atividade hemaglutinante por carboidratos foi realizado incubando o extrato com glicose, manose, frutose, galactose, maltose, caseína, azocaseína e albumina, nas concentrações de 0,4 M para carboidrato e 2 mg/ml para glicoproteínas, por 15 min a 28° C antes da determinação da atividade hemaglutinante.

3.4 DOSAGEM DE FENÓIS TOTAIS E DE TANINOS

Para quantificação de fenóis totais e de taninos, foi utilizada uma adaptação da metodologia de Amorim et al. (2008) descrita por Margraf et al. (2015). Em cada poço de uma microplaca de 96 poços, foram adicionados 100 µl do reagente Folin-Ciocalteu a 10% (v/v), seguido de 20 µl de amostra diluída em água destilada, aguardando reagir durante 5 minutos. Passado o tempo, foram adicionados 100 µl de carbonato de sódio 7,5% (m/v), seguido de repouso por 60 minutos a 25º C. A placa foi lida utilizando espectrofotômetro a 740 nm. Uma curva de calibração foi preparada usando ácido tânico (0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 5,0, 7,5 e 10 µg/ml) e o conteúdo de fenóis totais foi expresso como microgramas de equivalentes de ácido tânico (EAT) por grama de extrato.

Os fenóis residuais foram quantificados pesando 1 g de caseína foi transferida para um erlenmeyer de 50 ml, adicionando-se 6 ml de amostra e 12 ml de água destilada. Depois de 3 horas sob agitação, a solução foi filtrada em balão volumétrico e adicionada água destilada até completar o volume de 25 ml. Em seguida, uma alíquota de 20 µl foi retirada e quantificado o teor de fenóis (fenóis

residuais) como descrito no parágrafo anterior. O teor de taninos correspondeu à diferença entre o valor de fenóis totais e residuais.

3.5 ATIVIDADE HEMOLÍTICA

Amostras de sangue humano (2 a 5 ml) foram obtidas de voluntários após obter o consentimento informado por escrito, como aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da UFPE (processo 2.478.480). As amostras de sangue foram centrifugadas por 5 min para obter eritrócitos, que foram lavados três vezes com NaCl 150 mM. Em tubos de ensaio, 1,1 ml de suspensão de eritrócitos (2%, v/v) e 0,4 ml de extrato (2,34-300 µg/ml) foram adicionados. A solução salina foi usada como controle negativo e saponina Quillaja (0,0025%, p/v) foi usada como um positivo ao controle. Após incubação por 60 min, as células foram centrifugadas e a absorbância do sobrenadante foi registrada em 540 nm. Foi aplicada a seguinte fórmula:

$$Atividade\,Hemolítica\,(\%) = \frac{As - Anc \times 100}{(Apc - Anc)}$$

Onde Anc é a absorbância do controle negativo; As é a absorbância da amostra; Apc é absorbância do controle positivo (saponina).

3.6 ATIVIDADE PROTEOLÍTICA

A atividade proteolítica foi determinada usando azocaseína (Sigma–Aldrich, EUA) como substrato, de acordo com Azeez et al. (2007). O extrato aquoso de *A. occidentale* (100 µl) foi misturado com 300 µl de 0,1 M de fosfato de sódio pH 7,5 contendo 0,6 % (p/v) de azocaseína. A mistura foi suplementada com 100 µl de 0,1% (v/v) Triton X-100 e incubada a 37° C por 3 h. A reação foi interrompida pela adição de 200 µl de ácido tricloroacético a 10% (p/v) e, após incubação (4° C, 30 min) a mistura foi centrifugada a 9.000 g por 10 min. Em seguida, foi determinada a absorbância do sobrenadante no comprimento de 366 nm do sobrenadante.

3.7 LINHAGEM MICROBIANA, CONDIÇÕES DE CULTIVO E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As linhagens microbianas utilizadas foram a *Escherichia coli* UFPEDA 224, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecalis* ATCC-6057, *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416, *Salmonella enteritidis* UFPEDA 414 e *Sthaphylococcus aureus* UFPEDA 02, fornecidas pela coleção de culturas (WDCM114) do Departamento de Antibióticos da UFPE. Os microrganismos foram mantidos em Caldo Mueller Hinton contendo glicerol 10% (v/v) a 20° C.

Para realização dos experimentos, as bactérias foram cultivadas em meio ágar Mueller Hinton *overnight* a 37°C. Em seguida, as colônias foram ressuspendidas em solução salina estéril (NaCl 0,15M) e ajustadas por turbidimetria a um comprimento de onda de 600 nm para a obtenção de suspensão bacteriana de 10^6 UFC/ml. Para o ensaio, o extrato foi filtrado em filtro de seringa de fluoreto de polivinilidemo hidrofóbico 13 mm x 0,22 µm estéreis.

3.8 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA E MÍNIMA BACTERICIDA

A concentração mínima inibitória (CMI) das amostras foi determinada pelo ensaio de micro titulação proposto pelo Instituto de Normas Laboratoriais e Clínicas (CLSI, 2018). Em placas de micro titulação de 96 poços, 80 µl da amostra foi adicionada no terceiro e quarto poço a partir do qual foi diluída de forma seriada em água destilada estéril até o décimo segundo poço da mesma fileira. Posteriormente, 40 µl do meio caldo Mueller Hinton foram adicionados em todos os poços, exceto no primeiro, que foi preenchido com 200 µl do meio de cultura, correspondendo ao controle de esterilidade. A suspensão bacteriana (80 µl; 10^6 UFC/ml) foi acrescentada do segundo até o último poço da fileira. O segundo poço (que contém microrganismos na ausência de amostra) correspondeu ao controle de crescimento 100%. As placas foram incubadas a 37º C e a densidade óptica foi medida no tempo zero e após 24 horas de incubação usando um leitor de microplacas. O CMI correspondeu à menor concentração da amostra capaz de promover redução ≥ 50% na densidade óptica, em comparação ao controle de crescimento 100%. Para a

determinação do CMB, foram inoculadas alíquotas de 10 µl dos poços contendo concentrações das amostras ≥ CMI em placas de Petri contendo meio ágar Mueller Hinton, que foram posteriormente incubados a 37º C por 24 horas. A CMB correspondeu à menor concentração da amostra capaz de reduzir o número de UFC em 99,9% em relação ao inóculo inicial. Cada ensaio foi realizado em triplicata e três experimentos independentes foram realizados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO

4.1.1 Determinação da quantidade de proteínas totais

A dosagem de proteínas é uma etapa fundamental no processo de caracterização de um extrato vegetal, visto a necessidade de se conhecer a quantificação exata da concentração de proteínas totais para utilização nas demais etapas. O resultado obtido foi de 10,8 mg/ml. Gonzatto et al. (2021), realizaram a dosagem de proteína para extrato macerado da folha de *Anacardium occidentale* em NaCl 0,15 M, encontrando o valor de 17 mg/ml.

4.1.2 Determinação da atividade hemaglutinante e inibição por carboidratos

O extrato foi capaz de aglutinar os eritrócitos, sendo um forte indício da presença de lectinas (Tabela 1). O ensaio de inibição por carboidratos e glicoproteínas reforçou que a lectina foi o agente hemaglutinante, pois quando há maior quantidade de carboidratos livres se comparado aos presentes na superfície dos eritrócitos, há competição pelos sítios de ligação das lectinas, impedindo-as de se ligarem aos carboidratos dos eritrócitos, inibindo a formação da malha celular. Houve inibição com azocaseína, caseína, albumina, glicose e galactose. Não houve inibição com manose, frutose e maltose.

Tabela 1 - Inibição da atividade hemaglutinante por carboidratos e glicoproteínas

	Título (-1)	AHE
AH	4096	379,26
Azocaseína	8	0,75
Caseína	8	0,75
Albumina	8	0,75
Glicose	2048	189,63
Galactose	2048	189,63

AH: Título^{-1}; AHE: Título^{-1}/mg/ml. Fonte: O autor (2023).

No experimento realizado por Gonzatto et al. (2021) também houve aglutinação de eritrócitos utilizando extrato macerado de folha de *A. occidentale* em NaCl 0,15 M, além de ter sido inibida pelo ensaio com frutose, maltose, manose, e metil-α-D-glicopiranosídeo, permanecendo estável mesmo sob mudança de pH e temperatura. É possível perceber que houve inibição da AH por diferentes carboidratos, sendo um forte indicativo da presença de lectinas no extrato da folha de *A. occidentale*.

4.1.3 Dosagem de fenol total

Compostos fenólicos de origem vegetal são antioxidantes naturais. Os mais abundantes são os flavonoides, tocoferóis, derivados do ácido cinâmico e ácidos orgânicos poli funcionais (RICE-EWANS; MILLER; PAGANGA, 1997; NIJVELDT et al., 2001; MOREIRA; MANCINI FILHO, 2003). Os compostos químicos que possuem grupamento fenólico são os que apresentam maior potencial farmacológico dentre os demais isolados de vegetais (GIL et al., 2000).

A dosagem fenólica do extrato aquoso das folhas de *A. occidentale* foi de 33,54 mg EAT/g. O teor de tanino encontrado foi de 28,33 mg EAT/g. Um estudo utilizando a curva de calibração com solução de ácido gálico obteve 29.21 mg de equivalentes de ácido gálico (EAG/g) a partir de extrato a baixa pressão de folha de *A. occidentale*, utilizando etanol como solvente (SENA, DANTAS, PEREIRA 2014). Também traçando uma curva padrão de ácido gálico, Sassi et al. (2022) realizaram a dosagem de conteúdo fenólico de extrato metanólico de folhas de *A. occidentale*, chegando ao resultado de 3,45 mg EAG/g. Madjitoloum et al. (2018), também utilizando extrato metanólico de folha, encontraram o valor de conteúdo fenólico total de 6,04 mg EAG/g. Apesar de resultados positivos, a diferença entre os valores está atribuído às metodologias e tipos de extratos e solventes diferentes, demonstrando a necessidade de avaliação para padronização do extrato.

4.1.4 Determinação da atividade proteolítica total

Proteases são enzimas capazes de catalisar a hidrólise de ligações peptídicas, atuando em diversos processos fisiológicos e celulares (BENDER; KEZDY, 1965). Utilizando azocaseína como substrato, foi possível observar

proteólise no ensaio realizado com o extrato de *A. occidentale*. O valor obtido foi de 0,898 U, indicando a presença de proteases.

4.1.5 Atividade hemolítica

Foi realizado com o extrato na concentração de 14 mg/ml e não foi detectada atividade hemolítica. Esse teste é um importante método para investigação de citotoxicidade e biocompatibilidade de diversos tipos de compostos, pois nele é possível observar se haverá hemólise, que é o processo no qual ocorre o rompimento da membrana das hemácias (KOLESNIKOVA; SKIRTACH; MÖHWALD, 2013). Assim, resultado negativo para a atividade hemolítica demonstra desempenho satisfatório do extrato.

Os compostos responsáveis pelo efeito hemolítico encontrado nas plantas são os fenóis, alcaloides, flavonoides e taninos (SURENDRA et al., 2016; DILAWAR et al., 2018). Em 2013, Araújo investigou a atividade hemolítica do extrato etanólico bruto da casca do caule de *Anacardium occidentale* através do isolamento dos taninos, obtendo resultado negativo. Em 2018, o teste foi realizado utilizando o mesmo tipo de extrato, tendo obtido o mesmo resultado, mesmo testado com o extrato em grande concentração (1000 mg/ml) (ARAÚJO et al., 2018).

4.2 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

O extrato aquoso das folhas de *A. occidentale* apresentou CMI de 1,06 mg/ml contra *E. coli*, mesmo valor encontrado para CMB. Os valores do CMI e CMB foram os mesmos em ambos extratos preparados. Também apresentou atividade contra *Acinetobacter baumannii,* com CMI de 4,24 mg/ml. Nas demais espécies não foi observada atividade antimicrobiana.

Atividade antibacteriana da *Anacardium occidentale* foi observada em ensaios envolvendo espécies gram-positivas e gram-negativas, incluindo a *Escherichia coli*, responsável por acometer o sistema gastrointestinal, além de outros, através da contaminação da água e alimentos (MITTELSTAEDT; CARVALHO, 2006).

Outros estudos abordando diferentes concentrações e solventes também demonstraram esse potencial. De acordo com Agedah, Bawo e Nyananyo (2010), bactérias da espécie *Escherichia coli*, tiveram seu crescimento inibido na presença

de extrato etanólico da folha de *A*. *occidentale*. No estudo realizado por Rajesh et al. (2015), que utilizou extrato metanólico da folha, obtido pelo método soxhlet, foi constatada grande atividade inibitória contra *E*. *coli*, sendo a maior dentre as espécies analisadas. Mustapha et al. (2015), utilizando extratos de folhas preparados com acetato de etila, 2-propanol e acetonitrila, também constatou atividade inibitória contra *E*. *coli*.

5 CONCLUSÃO

O extrato aquoso de folhas da *Anacardium occidentale* apresentou um forte indicativo da presença de lectinas, demonstrada na atividade hemaglutinante e inibição por carboidratos. Também apresentou concentração significativa de compostos fenólicos. O resultado da atividade proteolítica foi um indicativo da presença de proteases, além apresentar ausência de hemólise na atividade hemolítica. O extrato foi eficaz em inibir o crescimento e matar *Escherichia coli*. Dessa forma, se torna um forte candidato para estudos visando tratamento antibacteriano complementar aos antibióticos presentes no mercado. Esses fatores em conjunto demonstram que a espécie *Anacardium occidentale* pode trazer benefícios para a população humana, sendo uma planta de grande acessibilidade e com bons potenciais a serem explorados.

REFERÊNCIAS

AGEDAH, C. E.; BAWO, D. D. S.; NYANANYO, B. L. Identification of antimicrobial properties of cashew, *Anacardium occidentale* L.(Family Anacardiaceae). **Journal of Applied Sciences and Environmental Management**, v. 14, n. 3, 2010. Disponível em: https://www.ajol.info/index.php/jasem/article/view/61455. Acesso em: 31 jan. 2023.

AJILEYE, O. O. et al. Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from *Anacardium occidentale* L.(Anacardiaceae) leaf extract. **Journal of King Saud University-Science**, v. 27, n. 3, p. 244-252, 2015. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364714000986. Acesso em: 31 jan. 2023.

ALEXANDRE, Frédéric. O cajueiro (*Anacardium occidentale* L.): de simbolo da cultura nordestina a arvore testemunha da mundalização da economia e dos modos de vida. **Revista do Instituto Arqueológico, Historico e Geográfico Pernambucano**, n. 66, p. 13-42, 2013. Disponível em: https://sorbonne-paris-nord.hal.science/hal-00993035. Acesso em: 31 jan. 2023.

ALMEIDA, Luiza Heloá Ferreira de et al. Viabilidade econômica da produção de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Nativa**, v. 5, n. 1, p. 09-15, 2017. Disponível em: https://periodicoscientificos.ufmt.br/ojs/index.php/nativa/article/view/4115. Acesso em: 31 jan. 2023.

AMORIM, Elba L. C. et al. A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. **Functional Ecosystems and Communities**, v. 2, n. 1, p. 88-94, 2008. Disponível em: http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline/images/0812/FEC_2(SI1)/FEC_2(SI1)88-94o.pdf. Acesso em 27 fev. 2023.

ARAÚJO, Daniela Cintra de et al. Análise técnica e econômica do cultivo do cajueiro-anão (*Anacardium occidentale* L.) na regional de Jales-SP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p. 444-450, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbf/a/zyhYfKBs3M9GWzQtL5g9Rws/?lang=pt&format=html. Acesso em: 31 jan. 2023.

ARAÚJO, Januse Míllia Dantas de et al. Estudo etnofarmacológico de *Anacardium occidentale*: uma breve revisão. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e487985802-e487985802, 2020. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/5802. Acesso em: 31 jan. 2023.

ARAÚJO, Josenildo Segundo Chaves de et al. Antibacterial activity against cariogenic bacteria and cytotoxic and genotoxic potential of *Anacardium occidentale* L. and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan extracts. **Archives of Oral Biology**, v. 85, p. 113-119, 2018. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003996917303278. Acesso em: 8 mar. 2023.

ARAÚJO, Josenildo Segundo Chaves de. Investigação dos efeitos citotóxico, genotóxico e antibacteriano dos taninos isolados de *Anacardium occidentale* Linn e *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan em linhagens de *Streptococcus* associados ao biofilme dental. 2013. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2013. Disponível em: http://tede.bc.uepb.edu.br/jspui/handle/tede/1897. Acesso em: 8 mar. 2023.

ASSUNÇÃO, Raquel B.; MERCADANTE, Adriana Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chemistry**, v. 81, n. 4, p. 495-502, 2003. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814602004776. Acesso em: 31 jan. 2023.

AZEEZ, Abdul et al. Enhanced expression of serine proteases during floral senescence in Gladiolus. **Phytochemistry**, v. 68, n. 10, p. 1352-1357, 2007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942207001288. Acesso em 27 fev. 2023.

BACCARO, Maria Regina et al. Resistência antimicrobiana de amostras de *Escherichia coli* isoladas de fezes de leitões com diarreia. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 2, p. 15-18, 2002. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Andrea-Moreno-25/publication/227860667_Resistencia_antimicrobiana_de_amostras_de_Escherichia_coli_isoladas_de_fezes_de_leitoes_com_diarreia/links/0fcfd4fe8511b55d8e000000/Resistencia-antimicrobiana-de-amostras-de-Escherichia-coli-isoladas-de-fezes-de-leitoes-com-diarreia.pdf. Acesso em 11 mar. 2023

BANOV, Daniel et al. Caracterização do extrato seco de *Ginkgo biloba* L. em formulações de uso tópico. **Acta farmacêutica bonaerense**, v. 25, n. 2, p. 219, 2006. Disponível em: http://www.latamjpharm.org/trabajos/25/2/LAJOP_25_2_1_9_4LZR17I8X9.pdf. Acesso em: 23 mar. 2023.

BENDER, M. L.; KEZDY, F. J. Mechanism of action of proteolytic enzymes. **Annual review of biochemistry**, v. 34, n. 1, p. 49-76, 1965. Disponível em: https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.bi.34.070165.000405. Acesso em: 8 mar. 2023.

BICALHO, Beatriz; REZENDE, Cláudia M. Volatile compounds of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Zeitschrift für Naturforschung C**, v. 56, n. 1-2, p. 35-39, 2001. Disponível em: https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2001-1-206/html. Acesso em: 23 mar. 2023.

BRASIL. Política Nacional e Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Ministério da Saúde, 2016. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_programa_nacional_plantas_medicinais_fitoterapicos.pdf. Acesso em 31 jan. 2023.

BRITO, Edy Sousa de; SILVA, Ebenezer Oliveira de; RODRIGUES, Sueli. Caju—*Anacardium occidentale*. **Exotic Fruits. Academic Press**, 2018. p. 85-89. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128031384000125. Acesso em: 31 jan. 2023.

CARVALHO, Ana Cecília Bezerra. Plantas medicinais e fitoterápicos: regulamentação sanitária e proposta de modelo de monografia para espécies vegetais oficializadas no Brasil. 2011. Disponível em: https://repositorio.unb.br/handle/10482/8720. Acesso em 8 mar. 2023

CAVALCANTE, Rosane Barbosa Lopes. Ocorrência de *Escherichia coli* em fontes de água e pontos de consumo em uma comunidade rural. **Revista Ambiente & Água**, v. 9, p. 550-558, 2014. Disponível em: https://www.scielo.br/j/ambiagua/a/gWBsnTFR7xbXWLn3WnZg6zm/abstract/?lang=pt. Acesso em: 31 jan. 2023.

CHAN, Eric Wei Chiang et al. Ulam herbs: A review on the medicinal properties of *Anacardium occidentale* and *Barringtonia racemosa*. **Journal of applied pharmaceutical science**, v. 7, n. 2, p. 241-247, 2017. Disponível em: https://japsonline.com/admin/php/uploads/2179_pdf.pdf. Acesso em: 31 jan. 2023.

CHAVES, Mariana H. et al. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 106-112, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbfar/a/xWfLjNXZLYVBndNWML4M79N/abstract/?lang=pt. Acesso em 8 mar. 2023.

Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**. 11. ed. Edition, CLSI guideline M07. Disponível em: https://clsi.org/media/1928/m07ed11_sample.pdf. Acesso em 27 fev. 2023.

COSTA, Anderson Luiz Pena da; JUNIOR, Antonio Carlos Souza Silva. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45-57, 2017. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/e9dd/6f9ef66c2f4cb74b683178b78d45d83d46e6.pdf. Acesso em: 31 jan. 2023.

COUTINHO, Henrique D. M. et al. Avaliação comparativa da modulação de antibióticos, frente às cepas bacterianas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. **Revista Ciencias de la Salud**, v. 13, n. 3, p. 345-354, 2015. Disponível em: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-72732015000300003. Acesso em: 11 mar. 2023

DILAWAR, Shahnaz et al. Antibacterial, antibiofilm, hemolytic activity and phytochemical study of various aerial parts of *Moringa oleifera* in Pakistan. Asian. **Journal of Medical and Biological Research**, v. 4, n. 1, p. 77-85, 2018. Disponível em: https://www.banglajol.info/index.php/AJMBR/article/view/36825. Acesso em: 8 mar. 2023.

DRESCH, Roger Remy et al. Detecção de atividade lectínica e atividade hemolítica em extratos de esponjas (Porifera) nativas da costa atlântica do Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, p. 16-22, 2005. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rbfar/a/pVPJrW7Dj67CHHnfvpMQpWR/abstract/?lang=pt. Acesso em 23 mar. 2023.

GIL, Maria I. et al. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 48, n. 10, p. 4581-4589, 2000. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf000404a. Acesso em 8 mar. 2023.

GONZATTO, Vitor et al. Investigação da presença de lectinas em preparações de folhas de *Anacardium occidentale* L. E *Syzigium cumini* (L.) SKEELS. **Revista Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente**, v. 2, n. 1, p. 4-4, 2021. Disponível em: https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rema/article/view/795. Acesso em 23 mar. 2023.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Banco de Dados Agregados. Disponível em: http://http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/. Acesso em 31 jan. 2023.

KOLESNIKOVA, Tatiana A.; SKIRTACH, Andre G.; MÖHWALD, Helmuth. Red blood cells and polyelectrolyte multilayer capsules: natural carriers versus polymer-based drug delivery vehicles. **Expert opinion on drug delivery**, v. 10, n. 1, p. 47-58, 2013. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1517/17425247.2013.730516. Acesso em: 8 mar. 2023.

LEITE, Aracelli de Sousa et al. Pharmacological properties of cashew (*Anacardium occidentale*). **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 35, p. 1855-1863, 2016. Disponível em: https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/144433. Acesso em: 31 jan. 2023.

LIM, T. K. *Anacardium occidentale*. **Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants**, v. 1, p. 45-68, 2012. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-8661-7_6. Acesso em 31 jan. 2023.

LORENZI, Harri. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 5. ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008. Acesso em: 8 mar. 2023.

LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenolreagent. **Journal of Biological Chemistry**, v. 193, 265–275, 1951. Disponível em: https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19511404458. Acesso em 27 fev. 2023.

MARGRAF, Tiago et al. Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue assays to estimate the total phenolic content of juices and teas using 96-well microplates. **Journal of food science**, v. 80, n. 11, p. C2397-C2403, 2015.

Disponível em: https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1750-3841.13077. Acesso em: 27 fev. 2023.

MELO, Carolina. Castanha-de-caju: veja os benefícios e propriedades. Diário do Nordeste, 2021.
Disponível em: https://diariodonordeste.verdesmares.com.br/ser-saude/castanha-de-caju-veja-os-beneficios-e-propriedades-1.3126847. Acesso em 30 mar. 2023.

MELO, Eveny Silva de et al. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil. **Pubvet**, v. 12, p. 131, 2018. Disponível em: https://pdfs.semanticscholar.org/2602/0f3de0ebab767ca267faa51838f1b223693f.pdf. Acesso em 31 jan. 2023.

MITTELSTAEDT, Simone; CARVALHO, Vania Maria de. *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157: H7–revisão. **Rev Inst Ciênc Saúde**, v. 24, n. 3, p. 175-82, 2006. Disponível em: http://repositorio.unip.br/wp-content/uploads/2020/12/V24_N3_2006_p175-182.pdf. Acesso em: 8 mar. 2023.

MOREIRA, Ana Vládia Bandeira; MANCINI-FILHO, Jorge. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 411-424, 2004. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rn/a/DTZrPWn4jQZ7CBB9CHmS7Yt/abstract/?lang=pt. Acesso em 8 mar. 2023.

MOSQUITO, Susan et al. Molecular mechanisms of antibiotic resistance in *Escherichia coli*-associated diarrhea. **Revista peruana de medicina experimental y salud publica**, v. 28, n. 4, p. 648-656, 2011. Disponível em: https://europepmc.org/article/med/22241263. Acesso em 31 jan. 2023.

NERI, Marcelo; SOARES, Wagner. Desigualdade social e saúde no Brasil. **Cadernos de saúde pública**, v. 18, p. S77-S87, 2002. Disponível em: https://www.scielosp.org/article/ssm/content/raw/?resource_ssm_path=/media/assets/csp/v18s0/13795.pdf. Acesso em: 8 mar. 2023.

MUSTAPHA, Alqasim Abdullahi et al. Phytochemical screening and inhibitory activities of *Anacardium occidentale* leave extracts against some clinically important bacterial isolates. **Int J Pharmaco Phytochem Res**, v. 7, p. 365-369, 2015. Disponível em: http://impactfactor.org/PDF/IJPPR/7/IJPPR,Vol7,Issue2,Article31.pdf. Acesso em: 31 jan. 2023.

NIJVELDT, Robert J. et al. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. T**he American journal of clinical nutrition**, v. 74, n. 4, p. 418-425, 2001. Disponível em: https://academic.oup.com/ajcn/article-abstract/74/4/418/4737352. Acesso em 23 mar. 2023.

NUNES, Jarderlany Sousa et al. Produção, análise sensorial e físico-química de barras de cereal produzidas com derivados de caju. **Revista Verde de**

Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável, v. 8, n. 2, p. 25, 2013. Disponível em: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7395413. Acesso em: 23 mar. 2023.

OMANAKUTTAN, Athira et al. Anacardic acid inhibits the catalytic activity of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9. **Molecular pharmacology**, v. 82, n. 4, p. 614-622, 2012. Disponível em: https://molpharm.aspetjournals.org/content/82/4/614.short. Acesso em: 23 mar. 2023.

PADILHA, Janine Agra et al. Therapeutic effects of *Anacardium occidentale*: an integrative review. **Acta Brasiliensis**, v. 4, n. 3, p. 178-186, 2020. Disponível em: http://www.revistas.ufcg.edu.br/ActaBra/index.php/actabra/article/view/368. Acesso em: 31 jan. 2023.

PAIM, Jairnilson Silva. Atenção à saúde no Brasil. 2004. Disponível em: https://repositorio.ufba.br/handle/ri/6539. Acesso em: 8 mar. 2023.

PAIVA, P.M.G.; COELHO, L.C.B.B. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 36, p.113-118, 1992. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/BF02929691. Acesso em 27 fev. 2023.

PEUMANS, Willy J. DAMME, Els J. M. Van. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionary related proteins with diverse biological roles. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 17, n. 6, p. 575-692, 1998. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/02648725.1998.10647956. Acesso em: 23 mar. 2023.

RAJESH, B. R. et al. 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. Disponível em: https://www.phytojournal.com/archives?year=2015&vol=4&issue=1&ArticleId=550. Acesso em: 31 jan. 2023.

REZENDE, Helena Aparecida de; COCCO, Maria Inês Monteiro. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 36, p. 282-288, 2002. Disponível em: https://www.scielo.br/j/reeusp/a/d97pnbWmRCT9Mp9Bj6KKhcB/abstract/?lang=pt. Acesso em: 8 mar. 2023

RICE-EVANS, Catherine A.; MILLER, Nicholas J.; PAGANGA, George. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free radical biology and medicine**, v. 20, n. 7, p. 933-956, 1996. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0891584995022279. Acesso em: 23 mar. 2023.

RUFINO, Maria SM et al. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry,** v. 114, n. 2, p. 693-695, 2009. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881460801193X. Acesso em: 23 mar. 2023.

RUNJALA, Suneetha; KELLA, Lakshman. Cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) therap eutic benefits, processing and product development: An over view. **The Pharma Innovation**, v. 6, n. 7, Part D, p. 260, 2017. Disponível em: https://www.thepharmajournal.com/archives/2017/vol6issue7/PartD/6-7-53-698.pdf. Acesso em: 8 mar. 2023

SALEHI, Bahare et al. Antioxidant, antimicrobial, and anticancer effects of *Anacardium* plants: an ethnopharmacological perspective. **Frontiers in Endocrinology**, v. 11, p. 295, 2020. Disponível em: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2020.00295/full. Acesso em: 31 jan. 2023.

SASSI, A. et al. Analysis of phenolic profile, total phenolic content and antioxidant activity in *Anacardium occidentale* leaves. **Food Research**, v. 6, n. 1, p. 20-26, 2022. Disponível em: https://www.myfoodresearch.com/uploads/8/4/8/5/84855864/_4__fr-2021-105_sassi.pdf. Acesso em: 8 mar. 2023.

SOUSA, Islandia Maria Carvalho de; TESSER, Charles Dalcanale. Medicina Tradicional e Complementar no Brasil: inserção no Sistema Único de Saúde e integração com a atenção primária. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 33, p. e00150215, 2017. Disponível em: https://www.scielosp.org/article/csp/2017.v33n1/e00150215/pt/. Acesso em: 8 mar. 2023.

SOUZA, Natália Cabral et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Anacardium occidentale* leaf extract. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017. Disponível em: https://www.hindawi.com/journals/ecam/2017/2787308/. Acesso em 31 jan. 2023.

SOUZA, Zion Nascimento de et al. Lectinas antibacterianas e antibiofilmes de plantas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e70101522595-e70101522595, 2021. Disponível em: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22595. Acesso em: 23 mar. 2023.

SENA, Suzara RC; DANTAS, Theresa RF; PEREIRA, Camila G. Evaluation of the antioxidant activity of extracts from *Psidium guajava* L. and *Anacardium occidentale* L. leaves obtained by different extraction methods. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v. 12, n. 3&4, p. 93-97, 2014. Disponível em: https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=030c223eb62d481fe176166ceeed59845a2a4f5b. Acesso em: 8 mar. 2023.

SUN, Yingli et al. Inhibition of histone acetyltransferase activity by anacardic acid sensitizes tumor cells to ionizing radiation. **FEBS letters**, v. 580, n. 18, p. 4353-4356, 2006. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014579306008167. Acesso em: 23 mar. 2023.

SURENDRA, T. V. et al. RSM optimized *Moringa oleifera* peel extract for green synthesis of *M. oleifera* capped palladium nanoparticles with antibacterial and hemolytic property. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 162, p. 550-557, 2016. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1011134416305358. Acesso em: 8 mar. 2023.

TAN, Yuen Ping; CHAN, Eric Wei Chiang. Antioxidant, antityrosinase and antibacterial properties of fresh and processed leaves of *Anacardium occidentale* and *Piper betle*. **Food Bioscience**, v. 6, p. 17-23, 2014. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429214000121. Acesso em: 31 jan. 2023.

THOMAS, B. T. et al. Antibacterial and anti-inflammatory activities of *Anacardium occidentale* leaves and bark extracts. **Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 23, n. 1, p. 1-6, 2015. Disponível em: https://www.ajol.info/index.php/njbas/article/view/120049. Acesso em: 29 mar. 2023.

THOMAS, M. L. R. Mota G.; BARBOSA FILHO, J. M. Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. **Journal of ethnopharmacology**, v. 13, n. 3, p. 289-300, 1985. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0378874185900741. Acesso em: 23 mar. 2023.

TORTORA, Gerard J.; CASE, Christine L.; FUNKE, Berdell R. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. Acesso em: 8 mar. 2023.

TREVISAN, Márcio; SEIBERT, Carla Simone; SANTOS, Márcio Galdino dos. O emprego da medicina tradicional no SUS em uma cidade da Amazônia Legal. **DESAFIOS-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 8, n. 2, p. 93-109, 2021. Disponível em: https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/desafios/article/view/10371. Acesso em: 8 mar. 2023

VICTORA, Cesar Gomes et al. **Condições de saúde e inovações nas políticas de saúde no Brasil:** o caminho a percorrer. 2011. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/25211. Acesso em 8 mar. 2023.