



**RENORBIO**

Rede Nordeste de Biotecnologia

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

**TONICLEY ALEXANDRE DA SILVA**

***Anacardium occidentale* L.: ação sobre a inibição enzimática, glicemia e produção de insulina na diabetes**

**São Luís**

**2015**

TONICLEY ALEXANDRE DA SILVA

***Anacardium occidentale* L.: ação sobre a inibição  
enzimática, glicemia e produção de insulina na  
diabetes**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia – Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Rosane Nassar  
Maireles Guerra

São Luís

2015

Silva, Tonicley Alexandre da  
*Anacardium occidentale* L.: Ação sobre a inibição enzimática, glicemia e produção de insulina na diabetes. Tonicley Alexandre da Silva. – São Luis, 2015.  
– 97 f.  
Impresso por computador (fotocópia).  
Orientadora: Rosane Nassar Meireles Guerra  
Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Maranhão, Rede Nordeste de Biotecnologia, 2015.  
1. *Anacardium occidentale* L. 2. Diabetes. 3. Flores  
I. Título.

CDU: 634.573

TONICLEY ALEXANDRE DA SILVA

***Anacardium occidentale* L.: ação sobre a inibição enzimática, glicemia e produção de insulina na diabetes.**

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Doutorado em Biotecnologia, em sessão pública realizada no dia     /     /     , considerou o(a) candidato(a)

(   ) APROVADA

(   ) REPROVADA

1) Examinador \_\_\_\_\_

2) Examinador \_\_\_\_\_

3) Examinador \_\_\_\_\_

4) Presidente (Orientador) \_\_\_\_\_

Para:

Maria José, mãe e inspiração de vida.

João Batista, pai e grande incentivador.

Minha irmã Abgail.

Meus avôs Francisco e Pedro.

Minhas avós Letícia e Joana.

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS que conduz a minha vida e tem abençoado todos os meus passos.

À minha orientadora, Profa. Dra. ROSANE NASSAR MEIRELES GUERRA, mestra e inspiração profissional, que compartilhou muito do seu tempo, talento e competência, tornando possível a elaboração deste trabalho.

A todos os amigos do Laboratório de Imunofisiologia, por suas importantes sugestões, colaboração nos trabalhos experimentais e apoio no desenvolvimento deste trabalho.

A Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado do Maranhão - FAPEMA pelo auxílio financeiro que viabilizou a realização deste trabalho.

*“A pessoa que pensa que sabe alguma coisa ainda  
não tem a sabedoria que precisa”*

*1 Coríntios 8: 2*

## RESUMO

A diabetes mellitus é um distúrbio crônico, que afeta o metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas, ocasionando hiperglicemia, em virtude de redução da sensibilidade ou da produção insuficiente de insulina. Espécies vegetais são frequentemente utilizadas pela população como tratamento complementar da diabetes entre as espécies mais citadas está *Anacardium occidentale* L. O presente estudo avaliou o efeito do extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale* L. e de compostos sobre as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase *in vitro* e os efeitos de *A. occidentale* sobre a produção de insulina e a glicemia sanguínea no diabetes murino. Para isso sistematizou-se as informações sobre dados etnobotânicos e científicos acerca da atividade anti-diabetes de *A. occidentale*, considerando a toxicidade e os efeitos farmacológicos. Avaliou-se o efeito das partes aéreas de *A. occidentale* e de seus compostos majoritários (ácidos anacárdico, chiquímico, gálico e elágico), sobre inibição das enzimas  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase *in vitro*. E avaliou-se o efeito do extrato das flores de *A. occidentale* no controle da diabetes tipo 2, considerando a produção de glicose, insulina e citocinas *in vivo*. Para realização dos ensaios *in vitro* foram preparados os extratos hidroalcoólicos das flores (EFL), folhas (EF) e casca (EC) do caule de *A. occidentale* e preparações com compostos presentes nos extratos, bem como misturas desses compostos: ácido anacárdico (AA), chiquímico (AC), gálico (AG) e elágico (AE) testados em várias concentrações (0,5; 5; 50 e 500 mg/Kg). Os ensaios *in vitro* avaliaram a ação dos extratos e dos compostos sobre a inibição da  $\alpha$ -amilase de saliva humana e a  $\alpha$ -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae*. Para realização dos ensaios *in vivo* foi induzida diabetes em camundongos Swiss machos, três meses de idade, com frutose e estreptozotocina. Os animais foram divididos em 6 grupos com 5 animais cada, tratados com salina, metformina e EFL nas concentrações de 0,5; 5; 50 e 500 mg/Kg avaliados por do teste de tolerância oral a glicose, variação glicêmica, consumo de água e ração, variação ponderal, concentração de hemoglobina glicada, insulina, frutossaminas, triglicérides, colesterol total e frações HDL e LDL, produção das citocinas IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4 e IL-10. Os resultados *in vitro* mostraram que o EFL apresentou o maior efeito inibitório da atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase do que os demais extratos, mesmo nas menores concentrações, possivelmente devido a presença do ácido anacárdico e elágico, já que estes dois compostos presentes no extrato bruto, quando avaliados isoladamente, ou em associação com o ácido chiquímico, apresentaram efeito similar ao EFL. Na avaliação *in vivo* o EFL reduziu o pico glicêmico, o consumo de água e de ração, a concentração de hemoglobina glicada, frutossaminas, triglicérides, colesterol total e fração LDL. Por outro lado, ocorreram nesse mesmo grupo aumento da fração HDL do colesterol e aumento na concentração de citocinas anti-inflamatórias IL-10 e IL-4. Em conjunto, os resultados indicam que o EFL apresenta ação efetiva no controle da diabetes mellitus, devido a inibição enzimática, regulação glicêmica e redução da produção de insulina, possivelmente em decorrência do aumento da sensibilidade periférica.

**Palavras-chave:** *Anacardium occidentale*, diabetes, amilase, glicosidase, ácido anacárdico, ácido elágico.

## ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic disorder affecting the metabolism of carbohydrates, fats and proteins, leading to hyperglycemia, due to reduced sensitivity, or insufficient insulin production. Plant species are often used by the population as a complementary treatment of diabetes among the most cited species is *Anacardium occidentale* L. This study evaluated the effect of hydroalcoholic extract of *Anacardium occidentale* L. and compounds on the  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase *in vitro* and the effects of *A. occidentale* on the production of insulin and blood glucose levels in murine diabetes. For this systematized up the information on scientific and ethnobotanical data on the anti-diabetes activity *A. occidentale*, considering the toxicity and pharmacological effects. We evaluated the effect of the aerial parts of *A. occidentale* and its major compounds (anacardic acid, shikimic, gallic and ellagic) on inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase enzymes *in vitro*. Evaluated the effect of the extract of *A. occidentale* flowers in controlling type 2 diabetes, considering the production of glucose, insulin, and *in vivo* cytokines. To achieve the *in vitro* assays hydroalcoholic extracts of flowers were prepared (EFL), leaves (EF) and shell (EC) stem of *A. occidentale*, preparations containing compounds present in the extracts as well as mixtures of such compounds: anacardic acid (AA), shikimic (AC), gallic (AG) and ellagic (AE) tested in various concentrations (0.5, 5, 50 and 500 mg/Kg). *In vitro* assays have evaluated the effect of extracts and compounds on the inhibition of  $\alpha$ -amylase and human salivary  $\alpha$ -glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*. To conduct *in vivo* testing diabetes was induced in male Swiss mice, three months old, with fructose and streptozotocin. The animals were divided into 6 groups of 5 animals each, treated with saline, metformin and EFL in concentrations of 0.5; 5; 50 and 500 mg/Kg evaluated by oral tolerance test glucose, glycemic variation, consumption of water and feed, changes in body weight, concentration of glycated hemoglobin, insulin, fructosaminas, triglycerides, total cholesterol and HDL and LDL fractions, production of cytokines IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4 and IL-10. The *in vitro* results showed that the EFL showed the highest inhibitory effect on the activity of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase than the other extracts enzymes even at low concentrations, possibly due to the presence of anacardic acid and ellagic acid, since these two compounds present in the crude extract, when evaluated alone, or in combination with shikimic acid showed a similar effect to the EFL. *In vivo* the EFL reduced the glycemic peak, consumption of water and feed, the concentration of glycated hemoglobin, fructosaminas, triglycerides, total cholesterol and LDL. On the other hand, occurred in the same group increase in the HDL fraction, and increase in the concentration of anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-4. Together, the results indicate that the EFL with proven effectiveness in controlling diabetes mellitus due to enzyme inhibition, and reducing glucose homeostasis in insulin production, possibly due to the increase in peripheral sensitivity.

**Keywords:** *Anacardium occidentale*, diabetes, amylase, glucosidase, anacardic acid, ellagic acid.

## SUMÁRIO

|                                                 | Pág.      |
|-------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                       | <b>12</b> |
| <b>2 OBJETIVOS.....</b>                         | <b>14</b> |
| 2.1 Objetivo Geral .....                        | 14        |
| 2.2 Objetivos Específicos .....                 | 14        |
| <b>3 CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO .....</b> | <b>15</b> |
| Resumo .....                                    | 17        |
| 1.Introdução .....                              | 19        |
| 2. Fontes, Bancos de Dados e Indexadores.....   | 21        |
| 3. Usos Populares .....                         | 23        |
| 4. Toxicidade .....                             | 25        |
| 5. Atividade Farmacológica .....                | 28        |
| 6. Conclusões .....                             | 32        |
| Referências Bibliográficas .....                | 32        |
| <b>4 CAPITULO 2 .....</b>                       | <b>44</b> |
| Resumo .....                                    | 46        |
| 1.Introdução .....                              | 47        |
| 2. Materiais e Métodos .....                    | 50        |
| 3. Resultados e Discussão .....                 | 55        |
| 4. Conclusões .....                             | 77        |
| Referências Bibliográficas .....                | 77        |
| <b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>             | <b>94</b> |
| <b>6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>       | <b>95</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                 | Pág. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>Figura 1:</b> Efeito de <i>A. occidentale</i> sobre a tolerância oral a glicose.                                                             | 62   |
| <b>Figura 2:</b> Efeito de <i>A. occidentale</i> sobre a variação glicêmica.                                                                    | 65   |
| <b>Figura 3:</b> Efeito de <i>A. occidentale</i> sobre a variação ponderal.                                                                     | 67   |
| <b>Figura 4:</b> Consumo diário de água e ração de animais com diabetes.                                                                        | 69   |
| <b>Figura 5:</b> Efeito de <i>A. occidentale</i> sobre a concentração sérica de insulina.                                                       | 74   |
| <b>Figura 6:</b> Efeito de <i>A. occidentale</i> sobre a concentração das citocinas IFN- $\gamma$ (A); TNF- $\alpha$ (B); IL-10 (C) e IL-4 (D). | 76   |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                                         | Pág. |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| <b>CAPÍTULO 1</b>                                                                                                                                                                                                                                                       |      |
| <b>Tabela 1.</b> Número de trabalhos por palavras chave nos banco de dados científicos.                                                                                                                                                                                 | 22   |
| <b>Tabela 2.</b> Usos populares de <i>A. occidentale</i> de acordo com o continente, país, local, parte utilizada e preparações.                                                                                                                                        | 24   |
| <b>Tabela 3.</b> Estudos de toxicidade de <i>A. occidentale</i> de acordo com espécie/organismo testado, parte utilizada, preparação e resultados.                                                                                                                      | 27   |
| <b>Tabela 4.</b> Atividade farmacológica de <i>A. occidentale</i> no controle da diabetes                                                                                                                                                                               | 30   |
| <b>CAPITULO 2</b>                                                                                                                                                                                                                                                       |      |
| <b>Tabela 1.</b> Efeito dos extratos das folhas, flores e da casca do caule de <i>A. occidentale</i> de seus compostos majoritários (ácido anacárdico, chiquímico, gálico e elágico), bem como misturas desses compostos, sobre atividade da $\alpha$ -amilase (U/L).   | 57   |
| <b>Tabela 2.</b> Efeito dos extratos das folhas, flores e da casca do caule de <i>A. occidentale</i> de seus compostos majoritários (ácido anacárdico, chiquímico, gálico e elágico), bem como misturas desses compostos, sobre atividade da $\alpha$ glicosidase(U/L). | 58   |
| <b>Tabela 3.</b> Análise bioquímica de camundongos com diabetes e tratados com <i>A. occidentale</i> .                                                                                                                                                                  | 72   |

## 1. INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus compreende um conjunto de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia, resultante de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambas. A classificação proposta pela Associação Americana de Diabetes (ADA, 2013) e recomendada pela Sociedade Brasileira de Diabetes inclui quatro classes clínicas: Diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, a diabetes gestacional e outros tipos específicos de diabetes. Ainda há duas categorias, referidas como pré-diabetes, que se caracterizam pela glicemia de jejum alterada e pela tolerância à glicose diminuída. Essas categorias não são entidades clínicas, mas fatores de risco para o desenvolvimento de diabetes e doenças cardiovasculares (SBD, 2014).

Entre os diferentes tipos o diabetes tipo 2 é a forma mais comum e está presente entre 90% a 95% dos casos. O diabetes Tipo 2 caracteriza-se por defeitos na ação e na secreção da insulina. Em geral, os dois tipos de alteração estão presentes quando a hiperglicemia se manifesta, mesmo nos casos em que há predomínio de um deles. A maioria dos pacientes com essa forma de diabetes apresenta cetoacidose, sobrepeso ou obesidade. (Lin e Sun, 2010; Olokoba *et. al.*, 2012; Kahn *et. al.* 2014; SBD, 2014).

Para o controle do diabetes tipo 2 os antidiabéticos orais são os mais utilizados. São medicamentos, que têm como efeito controlar e/ou reduzir a glicemia e mantê-la normal. Sob esse conceito amplo, de acordo com o mecanismo de ação principal, os antidiabéticos orais podem ser separados em quatro grupos: 1. sulfonilureias e glinidas - que estimulam a secreção pancreática de insulina; 2. inibidores das alfa-glicosidases - reduzem a velocidade de absorção de glicídios; 3. Biguanidas - diminuem a produção hepática de glicose e 4. Glitazonas - aumentam a utilização periférica de glicose (Oliveira *et. al.*, 2003; Oliveira e Milech, 2004).

Mesmo com a variedade de medicamentos disponíveis no mercado para o controle do diabetes a sua natureza crônica, a gravidade das complicações e os meios necessários para controlá-las tornam o diabetes uma doença muito

onerosa não apenas para os indivíduos afetados e suas famílias, mas também para o sistema público de saúde (WHO, 2002). Desta forma, varias alternativas terapêuticas de facil obtenção e baixo custo tem sido utilizadas pela população para tratar do diabetes. Entre essas alternativas o uso de espécies vegetais como o *Anacardium occidentale* L., espécie nativa do nordeste do Brasil (Cruz, 1985; Albuquerque, 1989). *A. occidentale* despertou o interesse de nosso grupo por ser espécie nativa do Brasil, pela abundancia no Maranhão, devido a ampla utilização pela população como hipoglecimiante, conforme dados etnobotânicos (Marles e Farnsworth, 1995; Raman *et al.*, 2012).

Em trabalho realizado anteriormente por nosso grupo, foi possível mostrar que o extrato hidroalcoólico das flores de *A. occidentale*, produziu efeito benéfico no diabetes mellitus tipo 1, reduzindo e modulando a glicose sanguínea tanto em dose única, como em tratamento crônico , bem como nos sinais decorrentes do diabetes, provavelmente por mecanismo relacionado a secreção de insulina e a modulação do processo autoimune devido a produção de IL-4 e IL-10. (Silva, 2010), sugerindo que a espécie tem potencial biotecnológico na geração de fitoterápicos com ação anti-diabetes.

Estas descobertas nos motivaram a dar continuidade a investigação das ações de extratos *A. occidentale* no controle do diabetes, desta forma, propomos neste trabalho testar o efeito de extratos de *A. occidentale* no controle do diabetes, utilizando um modelo que se assemelha o diabetes tipo 2. Investigaremos também os efeitos dos extratos das partes aéreas e dos compostos majoritários comumente identificados nesses extratos sobre a inibição das enzimas  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase Esse trabalho foi organizado em capítulos sendo o primeiro deles relativo ao referencial teórico, o segundo capítulo se refere a ação *in vitro* e *in vivo* de *A. occidentale* e de compostos predominantes nas suas partes aéreas e o terceiro e último capítulo trata da proteção intelectual de um produto com ação anti-diabetes, na perspectiva de utilizar essa espécie vegetal na produção de fitoterápicos com ação anti-diabetes.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral:

Avaliar o efeito *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale* L. e de compostos sobre as enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, bem como avaliar os efeitos de *A. occidentale* sobre a produção de insulina e a glicemia sanguínea no diabetes murino.

### 2.2 Objetivos Específicos:

- Capítulo 1:

Sistematizar as informações sobre dados etnobotânicos e científicos acerca da atividade anti-diabetes de *A. occidentale*, considerando a toxicidade e os efeitos farmacológicos.

- Capítulo 2 :

Avaliar o efeito das partes aéreas de *A. occidentale* e de seus compostos majoritários (ácidos anacárdico, chiquímico, gálico e elágico), sobre inibição das enzimas  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase *in vitro*.

Avaliar o efeito do extrato das flores de *A. occidentale* no controle da diabetes tipo 2, considerando a produção de glicose, insulina e citocinas *in vivo*.

### 3. CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

Artigo1:

*Anacardium occidentale* no controle da diabetes: dados etnofarmacológicos, toxicológicos e farmacológicos.

A ser submetido ao Journal of Ethnopharmacology - Elsevier

Endereço:

<http://www.journals.elsevier.com/journal-of-ethnopharmacology/>

**Título:** *Anacardium occidentale* efeitos no controle da diabetes: dados etnofarmacológicos, toxicológicos e farmacológicos.

**Os nomes dos autores e afiliações:**

Tonicley Alexandre da Silva, Rosane Nassar Meireles Guerra

Laboratório de Imunofisiologia – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde –  
Universidade Federal do Maranhão, Prédio do Ensino Integrado, Bloco 1, sala  
1A - Av. dos Portugueses, 1966, São Luís, MA - Brasil / CEP 65080-805

.

**Endereço para correspondência:**

Email: rnmguerra@pq.cnpq.br

## RESUMO

**Relevância etnofarmacológica:** Muitas espécies vegetais são utilizadas, popularmente no controle do diabetes, entre elas se inclui *Anacardium occidentale* L, espécie nativa no Brasil e muito utilizada pela população como alimento e como medicamento. Foram levantados e sistematizadas as publicações acerca da atividade anti-diabetes de *A. occidentale* considerando os dados etnofarmacológicos, toxicológicos e farmacológicos com o objetivo de demonstrar o seu potencial biotecnológico no desenvolvimento de novos medicamentos.

**Materiais e métodos:** Foram pesquisados os artigos constantes nos seguintes bancos de dados: PubMed, Scielo e Medline, usando como indexadores palavras-chave relacionadas ao uso etnofarmacológico, toxicológico e farmacológico no controle do diabetes.

**Resultados:** O uso etnofarmacológico de *A. occidentale* no controle do diabetes foi mais freqüente em países do continente africano, americano e asiático. Nos estudos toxicológicos a casca do caule e as folhas foram as mais utilizadas, principalmente no preparo dos extratos aquosos, hidroalcoólicos e metanólicos. Os ensaios de toxicidade mostraram elevada DL50 (acima de 2000mg/Kg) e hepatotoxicidade transitória devido a elevação das concentrações de alanina e aspartato transaminase em cães. Também foi observado efeito antimutagênico e baixa genotoxicidade, sugerindo que a utilização do extrato é relativamente segura. Os estudos farmacológicos utilizaram material botânico majoritariamente originário da África para a preparação de extratos hidroalcoólicos, metanólicos e hexânico com folhas e casca do caule. Os ensaios foram mais frequentemente realizados em ratos Wistar nos quais o diabetes foi induzido experimentalmente por estreptozotocina. Os principais efeitos encontrados mostraram redução da glicemia, glicosúria, hiperlipidemia, peroxidação de lipídios, proteção quanto a redução de HDL-C, diminuição da concentração de insulina e redução da resposta glicêmica pós-prandial, corroborando com os dados etnobotânicos quanto a ação de *A. occidentale* no diabetes.

**Conclusões:** Considerando a sua ampla utilização pela população, sua baixa toxicidade e a comprovada atividade farmacológica em vários ensaios *in vivo* e *in vitro*, concluímos que *A. occidentale* é espécie promissora para o desenvolvimento de nova opção terapêutica para o controle do diabetes.

**Classificação:** Revisão

**Termos de indexação:** diabetes, controle, *Anacardium occidentale* L. caju.

## 1. INTRODUÇÃO:

A diabetes mellitus é uma doença com relevante aumento da incidência e da prevalência nos últimos 20 anos. Em 1985, o número de diabéticos no mundo era estimado em 30 milhões de adultos; esse número aumentou para 135 milhões em 1995, atingindo 173 milhões de diabéticos em 2002, com projeção de chegar a 300 milhões em 2030. (Wild *et. al.*, 2004)

Segundo a Organização Mundial de Saúde vários são os fatores associados ao aumento no número de indivíduos diabéticos entre eles estão listados: o crescimento e do envelhecimento populacional; a maior urbanização; a crescente prevalência de obesidade e sedentarismo, bem como a maior sobrevivência de pacientes com diabetes. (WHO, 2014).

No Brasil, a prevalência de diabetes na população adulta foi estimada em 8 %, no final da década de 1980, (Malerbi e Franco, 1992). Dados obtidos em 2012 mostraram aumento nessas taxas, com valores de prevalência acima de 10%, na maioria dos estados brasileiros (Dias e Campos, 2012), chegando a 23 % quando investigado apenas as capitais dos estados (Malta *et. al.*, 2014).

Do ponto de vista etiológico a diabetes mellitus é um conjunto de distúrbios metabólicos que apresentam em comum a hiperglicemia, resultante de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambas. Cronicamente pode resultar na falência de vários órgãos, especialmente coração, rins, olhos além de disfunção vascular (Padberg *et al.*, 2014; DeFronzo *et al.*, 2013; Carrera Boada e Martínez-Moreno, 2013; Lee e Dang, 2012).

A classificação proposta pela Associação Americana de Diabetes (ADA, 2013) e recomendada pela Sociedade Brasileira de Diabetes inclui quatro classes clínicas: Diabetes tipo 1, diabetes tipo 2, outros tipos específicos de diabetes e diabetes gestacional. Há ainda, duas categorias referidas como pré-diabetes, que se caracterizam pelo aumento da glicemia em jejum e pelo diminuição da tolerância à glicose diminuída. Entretanto, essas categorias não são entidades clínicas, mas fatores de risco para o desenvolvimento de diabetes e doenças cardiovasculares (SDB, 2014).

Os antidiabéticos orais são as substâncias mais utilizadas no controle da diabetes. Esse grupo de medicamentos, quando ingeridos, têm a finalidade de baixar a glicemia e mantê-la normal. Sob esse conceito amplo, de acordo com o mecanismo de ação principal, os antidiabéticos orais mais utilizados incluem: 1 - sulfonilureias e glinidas: medicamentos que estimulam a secreção pancreática de insulina; 2 - inibidores das alfa-glicosidases: reduzem a velocidade de absorção de glicídios; 3- biguanidas: diminuem a produção hepática de glicose e 4- glitazonas: aumentam a utilização periférica de glicose (Oliveira *et. al.*, 2003; Oliveira e Milech, 2004).

A natureza crônica, já que não há cura, a gravidade das complicações e os meios necessários para controlá-las tornam o diabetes uma doença muito onerosa não apenas para os indivíduos afetados e suas famílias, mas também para o sistema de saúde (WHO, 2002). Desta forma, varias alternativas terapêuticas de facil obtenção e baixo custo tem sido utilizadas pela população, apesar da variedade de medicamentos disponíveis para o controle do diabetes. Razão pela qual esse é o objetivo de vários estudos de prospecção farmacológica e biotecnológica visando obter novas drogas a serem utilizadas no controle do diabetes. Entre as alternativas está o uso de espécies vegetais, tais como o *Anacardium occidentale* (Cruz, 1985; Albuquerque, 1989; Fagbohun; Odufuwa, 2010; Ramnik, 2010; Tedong *et. al.*, 2010b).

*A. occidentale* tem sido alvo de interesse de vários estudos (Fagbohun e Odufuwa, 2010; Ramnik, 2010; Tedong *et. al.*, 2010) em virtude do relato de seu uso por populações dos continentes Africano (Bever, 1980; Chhabra *et. al.*, 1993), Asiático (Shankar e Kiran, 2012) e Americano (Barrett, 1994; Albuquerque e Oliveira, 2007).

Além disso, estudos listando espécies vegetais utilizadas como hipoglicemiantes, constantemente tem destacado o *A. occidentale* como espécie promissora na obtenção de produtos destinados ao controle da diabetes e suas complicações, (Marles e Farnsworth, 1995; Menichini, 2010; Raman *et. al.*, 2012).

Tendo em vista o interesse da população quanto ao uso desta espécie e as várias publicações que mostram o efeito anti-diabetes de *A. occidentale*, Nesse trabalho foi revisado e sistematizado os dados constantes nos vários estudos, com enfoque nos dados etnofarmacológicos, toxicológicos e farmacológicos, visando agrupar as informações e viabilizar novos estudos que possam demonstrar o potencial de *A. occidentale* na geração de produtos com ação no diabetes.

## **2. FONTES, BANCOS DE DADOS E INDEXADORES:**

Os artigos analisados foram obtidos nas seguintes plataformas de consulta: PubMed, Science Direct, Google Acadêmico, Portal de periódicos da CAPES, foram utilizados para busca de publicações relativas a atividade anti-diabetes de *A. occidentale*, isoladamente ou em associação, os seguintes indexadores: *Anacardium occidentale*, cashew, diabetes, hypoglycemic, toxicity, toxic, cytotoxicity, cytotoxic, genotoxicity, genotoxic, mutagenicity, mutagenic entre 1980 e 2014.

A tabela 1 mostra a distribuição dos 41 artigos encontrados conforme a fonte de consulta banco de dados.

**Tabela 1:** Número de trabalhos encontrados segundo os indexadores utilizados e os banco de dados científicos pesquisados.

| PALAVRAS CHAVE                       | BANCO DE DADOS |                |                  |              |
|--------------------------------------|----------------|----------------|------------------|--------------|
|                                      | PubMed         | Science Direct | Google Acadêmico | Portal CAPES |
| <i>A. occidentale</i> /diabetes      | 24             | 262            | 2330             | 162          |
| <i>A. occidentale</i> / hypoglycemic | 22             | 89             | 2330             | 53           |
| <i>A. occidentale</i> / toxicity     | 49             | 421            | 4520             | 331          |
| <i>A.occidentale</i> / toxic         | 16             | 495            | 4920             | 349          |
| <i>A. occidentale</i> / cytotoxicity | 11             | 163            | 3150             | 108          |
| <i>A. occidentale</i> / cytotoxic    | 11             | 209            | 1290             | 134          |
| <i>A. occidentale</i> / genotoxicity | 4              | 52             | 332              | 27           |
| <i>A. occidentale</i> / genotoxic    | 4              | 50             | 332              | 24           |
| <i>A. occidentale</i> / mutagenicity | 7              | 57             | 1030             | 39           |
| <i>A. occidentale</i> / mutagenic    | 6              | 88             | 1450             | 54           |
| cashew / diabetes                    | 25             | 494            | 3800             | 22           |
| cashew / hypoglycemic                | 22             | 82             | 1250             | 6            |
| cashew / toxicity                    | 54             | 966            | 5910             | 84           |
| cashew / toxic                       | 25             | 1202           | 9500             | 65           |
| cashew / cytotoxicity                | 14             | 241            | 2000             | 17           |
| cashew / cytotoxic                   | 13             | 335            | 2000             | 18           |
| cashew / genotoxicity                | 4              | 110            | 635              | 17           |
| cashew / genotoxic                   | 4              | 109            | 635              | 13           |
| cashew / mutagenicity                | 9              | 101            | 1730             | 28           |
| cashew / mutagenic                   | 8              | 203            | 2730             | 33           |

### 3. USOS POPULARES

*A. occidentale* é espécie amplamente utilizada pela população para o tratamento do diabetes, diversos estudos etnofarmacológicos e revisões tem relado estes usos conforme mostra a Tabela 2.

Os relatos quanto ao uso etnobotânico de *A. occidentale* no diabetes têm sido mais frequentes nos países africanos, da América do Sul e Ásia. O Brasil é o país com maior número de estudos, contudo também há relatos oriundos da Guiné, Índia, Nicarágua, Nigéria, Tanzânia e Moçambique, possivelmente devido ampla distribuição da espécie nesses países, informação inclusive constante em alguns estudos etnofarmacológicos e revisões que avaliaram o seu uso. A abundância de exemplares da espécie, a facilidade de acesso às suas partes aéreas e a utilização da espécie como alimento podem ser motivadores da sua ampla utilização pela população (Verzár *et al.*, 1987; Chhabra *et al.*, 1993; Barrett, 1994; Baldé *et al.*, 2006; Nwauzoma *et al.*, 2013).

Os resultados mostraram que as populações tradicionais e o público, em geral, utilizam *A. occidentale* como hipoglicemiante no tratamento do diabetes, a partir do tratamento oral com infusões e tinturas preparados com as folhas, frutos e casca do caule. (Bever, 1980; Verzár e Petri, 1987; Chhabra *et al.*, 1993; Baldé *et al.*, 2006; Diallo *et al.*, 2012; Patel *et al.*, 2012; Nwauzoma *et al.*, 2013; Barrett, 1994; Atta-ur-Rahman e Zaman, 1989; Elisabetsky e Shanley 1994; Albuquerque e Oliveira, 2007; Alencar *et al.*, 2010; Barros *et al.*, 2012; Mazzari e Prieto 2014; Shankar e Kiran, 2012; Fátima *et al.*, 2012; Kunwar *et al.*, 2013; Khera e Bhatia 2014). Nada foi encontrado quanto ao uso popular das flores ou das raízes.

Segundo os resultados propostos uso popular da espécie como medicamento aumenta o seu valor agregado e possibilita a proposição de modelos integrados para desenvolvimento de novos medicamentos. Contudo, a maioria dos autores aponta a carência de estudos farmacocinéticos e dados de farmacovigilância que possam efetivamente determinar o significado clínico do uso da espécie no diabetes (Elisabetsky e Shanley 1994; Barros *et al.*, 2012; Fátima *et al.*, 2012; Diallo *et al.*, 2012; Khera e Bhatia 2014).

**Tabela 2:** Usos populares de *A. occidentale* de acordo com o continente, país, local, parte utilizada e preparações.

| CONTINENTE      | PAIS       | PARTE UTILIZADA        | PREPARAÇÕES        | REFERENCIAS                 |
|-----------------|------------|------------------------|--------------------|-----------------------------|
| Africa          | NE*        | Partes aéreas          | NE                 | Bever, 1980                 |
| Africa          | Moçambique | Casca                  | Infusões/ tinturas | Verzár e Petri, 1987        |
| Africa          | Tanzania   | Casca e folhas         | Infusões/ tinturas | Chhabra et al., 1993        |
| Africa          | Guiné      | Casca, folhas e frutos | NE                 | Baldé et al., 2006          |
| Africa          | Guiné      | Casca                  | Decocção           | Diallo et al., 2012         |
| Africa          | NE         | Casca                  | NE                 | Patel et al., 2012          |
| Africa          | Nigeria    | Casca e fruto          | NE                 | Nwauzoma et al., 2013       |
| America Central | Nicaragua  | Casca, folhas e frutos | Infusões/ tinturas | Barrett, 1994               |
| America do Sul  | Brasil     | Casca e folhas         | Infusões/ tinturas | Atta-ur-Rahman; Zaman, 1989 |
| America do Sul  | Brasil     | Casca                  | Tinturas           | Elisabetsky; Shanley 1994   |
| America do Sul  | Brasil     | NE                     | NE                 | Albuquerque; Oliveira, 2007 |
| America do Sul  | Brasil     | Fruto                  | Infusões           | Barros et al., 2012         |
| America do Sul  | Brasil     | Fruto                  | NE                 | Mazzari; Prieto 2014        |
| Asia            | India      | NE                     | NE                 | Shankar; Kiran, 2012        |
| Asia            | India      | NE                     | NE                 | Fátima et al., 2012         |
| Asia            | India      | Folha                  | Tinturas           | Khera; Bhatia 2014          |

(\*) NE: Não especificado

#### 4. TOXICIDADE

Os estudos toxicológicos foram realizados em ensaios *in vitro* e *in vivo*, utilizando principalmente extratos preparados com a casca do caule ou com as folhas de *A. occidentale*, mas também foi avaliada a toxicidade dos frutos, pseudofrutos e do ácido anacárdico, composto freqüente em todas as partes aéreas dessa espécie vegetal.

Os principais resultados de toxicidade estão sumarizados na Tabela 3, que mostra dados relativos ao efeito agudo e crônico, considerando a toxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade.

A maioria dos autores investigou a toxicidade e a atividade biológica utilizando extratos aquosos, hidroalcoólicos e metanólicos, preparados com a casca ou com as folhas. A predominância desses extratos pode estar relacionada a forma de utilização da população (infusões e tinturas) e também ao fato desses extratos serem os mais adequados as análise químico-farmacológicas (Elisabetsky e Shanley 1994; Barrett, 1994; Khera e Rodrigues, 2012; Santos *et al.*, 2014; Bhatia 2014).

Segundo Souza-Sartori (2012) e Fernandes *et al* (2014) o método sistemático de obtenção do extrato bruto com metanol, possibilita a extração de um maior número de compostos polares quando comparado ao etanol e a água, o que poderia explicar a opção por esse solvente em alguns estudos.

A maioria dos resultados de toxicidade foi obtido em ensaios *in vitro* utilizando culturas de células (Barcelos *et al.*, 2007a e 2007b; Konan *et al.*, 2007; Konan *et al.*, 2012; George e Kuttan, 1997) ou nos ensaios *in vivo* utilizando ratos Wistar, contudo também foram realizados testes em cães (De Melo *et al.*, 2006) e em humanos (Romero *et al.*, 2012; Shidfar *et al.*, 2014). O emprego de células e animais nos estudos toxicológicos fazem parte da estratégia de validação de novas drogas antes dos ensaios *in vivo* em humanos, devido as questões éticas. (Pacheco *et al.*, 2013; Dos Santos e De Gois, 2013).

A casca apresentou uma elevada DL50 nos testes agudos e nos testes crônicos (Okonkwo *et. al.*, 2010), além de efeito antimutagênico e baixa genotoxicidade (Barcelos *et. al.*, 2007a; Barcelos *et. al.*, 2007b). A avaliação em cães mostrou hepatotoxicidade transitória por elevação dos níveis da alanina e aspartato transaminase, (De Melo *et. al.*, 2006;).

Os tratamentos realizados com os extratos das folhas, não apresentaram toxicidade aguda, não produziram alterações detectáveis nas análises bioquímicas, hematológicas e histopatológicas e não apresentaram genotoxicidade e citotóxicidade (Konan e Bacchi, 2007; Konan *et. al.*, 2007; Fazil *et. al.*, 2011). Por outro lado, ocasionaram efeito hipocolesterolêmico, hepatoprotetor e apresentaram citotoxicidade para células de leucemia linfoblástica aguda, indicando atividade anti-tumoral (Konan *et. al.*, 2012).

O suco do pseudofruto foi testado em humanos e produziu atividade antimutagênica (Melo *et. al.*, 2003) e o ácido anacárdico não apresentou toxicidade aguda, nem efeito mutagenico, embora tenha reduzido o hematócrito e a concentração de hemoglobina e aumentado a concentração de uréia após o tratamento crônico (Carvalho *et. al.*, 2011).

**Tabela 3:** Estudos de toxicidade de *A. occidentale* de acordo com espécie/organismo testado, parte utilizada, preparação e resultados.

| PARTE UTILIZADA  | PREPARAÇÃO               | MODELO            | RESULTADOS                                                                                                                                  | REFERÊNCIAS                              |
|------------------|--------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| Casca            | Extrato hidroalcoólico   | Cães              | Hepatotoxicidade transitória por elevação da alanina e aspartato transaminase.                                                              | De Melo <i>et al.</i> , 2006             |
| Casca            | Extrato metanólico       | Ratos Wistar      | Alta DL50 e elevação dos níveis de alanina e aspartato aminotransaminase.                                                                   | Okonkwo <i>et al.</i> , 2010             |
| Casca            | Extrato metanólico       | Célula            | Efeito antimutagênico e genotoxicidade baixa.                                                                                               | Barcelos <i>et. al.</i> , 2007a e 2007b; |
| Folhas           | Extrato hidroalcoólico   | Ratos Wistar      | Ausência de toxicidade aguda, sem alterações detectáveis nas análises bioquímicas, hematológicas e histopatológicas.                        | Konan e Bacchi, 2007                     |
| Folhas           | Extrato aquoso           | Coelho            | Ausência de efeito tóxico e efeito hipocolesterolêmico e hepatoprotetor.                                                                    | Fazil <i>et. al.</i> , 2011              |
| Folhas           | Extrato hidroalcoólico   | Célula            | Ausencia de genotoxicidade e citotóxicidade                                                                                                 | Konan <i>et. al.</i> , 2007              |
| Folhas           | Extrato hidroalcoólico   | Célula            | Efeito citotóxico em células de leucemia linfoblástica aguda                                                                                | Konan <i>et. al.</i> , 2012              |
| Fruto            | Extrato éter de petróleo | Célula            | Ausência de mutagenicidade                                                                                                                  | George e Kuttan, 1997                    |
| Pseudofruto      | Suco                     | Humano            | Atividade antimutagênica e comutagenica                                                                                                     | Melo <i>et. al.</i> , 2003               |
| Ácido anacárdico | Extrato aquoso           | Camundongo BALB/c | Ausência de toxicidade aguda e de mutagenicidade, Redução do hematócrito e hemoglobina e aumento moderado da uréia após tratamento crônico. | Carvalho <i>et. al.</i> , 2011           |

## 5. ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

O estudo da atividade farmacológica de *A. occidentale* concentra-se principalmente em Camarões e Nigéria, onde também são produzidos mais resultados sobre o tema como mostra a Tabela 4. Há de se ressaltar também a grande utilização de *A. occidentale* pela população como recurso terapêutico no tratamento do diabetes, como mostram os estudos etnofarmacológicos (Baldé *et. al.*, 2006; Diallo *et. al.*, 2012; Nwauzoma *et. al.*, 2013).

Os principais dados farmacológicos estão listados na TABELA 4, que mostra também que os resultados foram majoritariamente obtidos com os extratos etanólico e/ou hexânico, oriundo das folhas e da casca do caule, sempre em tratamentos por via oral, para avaliar a atividade anti-diabetes tanto *in vitro* como *in vivo*,

A maioria dos resultados quanto ao efeito anti-diabetes de *A. occidentale* foram obtidos em experimentos *in vivo* utilizando ratos Wistar, nos quais o diabetes foi induzida por estreptozotocina. A grande utilização do modelo de diabetes induzida pela estreptozotocina relaciona-se a facilidade, reprodutibilidade e aos baixos custos, o que tornam a técnica amplamente aceita (Deeds *et. al.*, 2011; Chrcheva-Nikolovska *et. al.*, 2013; Hakkarainen *et. al.*, 2010; Rawat *et. al.*, 2012; Boopathy Raja *et. al.*, 2010; Wang *et. al.*, 2013; Kumar *et al.*, 2013; Lee *et. al.*, 2014). Importante ressaltar que também foram obtidos resultados da ação anti-diabetes de *A. occidentale* em cães e em humanos.

Para estudar os efeitos farmacológicos de *A. occidentale* os extratos hexânico e hidroalcoólico foram os mais utilizados, com material biológico predominantemente obtido em países africanos e no Brasil, possivelmente devido a abundancia de exemplares dessa espécie nesses países (Johnson, 1973; Akinhanmi *et. al.*, 2008).

O uso da via oral foi preponderante e na maioria das vezes foram testados extratos das folhas e do caule, mostrando direta relação com os dados etnobotânicos e a facilidade de obtenção (Bever 1980; Verzár e Petri,

1987; Baldé *et. al.*, 2006; Nwauzoma *et. al.*, 2013), considerando que a população utiliza essa espécie como recurso terapêutico no tratamento e controle do diabetes e sintomas associados (Bever 1980; Verzár e Petri, 1987; Baldé *et. al.*, 2006; Diallo *et. al.*, 2012; Nwauzoma *et. al.*, 2013).

Os principais efeitos anti-diabetes dos extratos de *A. occidentale* em animais foram: redução da glicemia, da glicosúria, da hiperlipidemia, da peroxidação de lipídios, controle da dislipidemia, redução da insulina sérica e da resposta glicêmica pós-prandial (Kamtchouing *et. al.*, 1998; Alexander-lindo *et. al.*, 2004; Olatunji *et. al.*, 2005; Tédong *et. al.*, 2007; Alexander-Lindo *et. al.*, 2007; Fagbohun e Odufuwa, 2010; Shidfar *et. al.*, 2014), conforme sumarizado na Tabela 4. Importante ressaltar que estes efeitos são os mesmos observados em medicamentos utilizados para o controle do diabetes tais como rosiglitazona e/ou ramipril (Gerstein *et. al.*, 2011) e metformina (Hirst *et. al.*, 2012). Em humanos a castanha de *A. occidentale* evitou a redução de HDL-C e diminuiu a insulina sérica (Romero *et. al.*, 2012; Shidfar *et. al.*, 2014).

Ao ser avaliada a captação de glicose observou-se que apenas os extratos da castanha e o ácido anacárdico estimularam a captação de glicose e tiveram efeito inibitório sobre  $\alpha$ -amilase, efeito não observado no extrato aquoso (Tedong *et. al.*, 2010; Ali *et. al.*, 2006). A inibição da  $\alpha$ -amilase diminui a digestão e a absorção de carboidratos retardando a liberação de glicose para o organismo, ocasionando redução na concentração de glicose no sangue, (Kazeem *et. al.*, 2013; Gautam *et. al.*, 2013; Ademiluyi e Oboh, 2013). Desta forma, é possível inferir que *A. occidentale* possui em sua composição compostos capazes de inibir a  $\alpha$ -amilase e reduzir a glicemia, o que torna essa espécie importante alvo biotecnológico para geração de medicamentos com ação no controle do diabetes.

**Tabela 4.** Atividade farmacológica de *A. occidentale* L. no controle do diabetes

| PAÍS<br>AUTOR | PARTE DA<br>PLANTA      | MATERIAL<br>ESTUDADO                                                                                                | ORIGEM   | MÉTODO                                          | MODELO            | VIA  | RESULTADO                                                                    | REFERÊNCIAS                           |
|---------------|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|-------------------------------------------------|-------------------|------|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| Camarões      | Folhas                  | Extrato aquoso das folhas                                                                                           | Camarões | Diabetes induzida por estreptozotocina          | Ratos Wistar      | Oral | 175 mg/kg hipoglicemiante e glicosúria                                       | Kamtchouing <i>et. al.</i> , 1998     |
| Jamaica       | Casca do caule          | Extrato hexânico, etílico, metanólico, da casca do caule e as substancias stigmast-4-en-3-one e stigmast-4-en-3-ol. | Jamaica  | Experimental em cachorros                       | Cachorros         | Oral | hipoglicemiante - stigmast-4-en-3-one e stigmast-4-en-3-ol.                  | Alexander-lindo <i>et. al.</i> , 2004 |
| Nigéria       | Casca do caule          | Extrato metanólico da casca do caule                                                                                | Nigéria  | Diabetes induzida por frutose                   | Ratos Wistar      | Oral | 200 mg/kg reduziu a hiperglicemia, hiperlipidemia e peroxidação de lipídios. | Olatunji <i>et. al.</i> , 2005        |
| Inglaterra    | Folhas e casca do caule | Extrato hexânico e diclorometano das folhas e casca do caule                                                        | Malásia  | Inibição da $\alpha$ -amilase <i>in vitro</i> . | $\alpha$ -Amilase | —    | Sem efeito inibitório                                                        | Ali <i>et. al.</i> , 2006             |
| Camarões      | Folhas                  | Extrato hexânico                                                                                                    | Camarões | Diabetes induzida por estreptozotocina          | Ratos Wistar      | Oral | 150 e 300 mg / kg reduziu a glicemia                                         | Tédong <i>et. al.</i> , 2007          |
| Jamaica       | Casca do caule          | Extrato hexânico, frações e Stigmast-4-en-3-one.                                                                    | Jamaica  | Experimental em cachorros                       | Cachorros         | Oral | Efeito hipoglicemiante do stigmast-4-en-3-one                                | Alexander-Lindo <i>et. al.</i> , 2007 |

|           |                                                   |                                                                                         |           |                                             |                                                    |      |                                                                              |                                         |
|-----------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------|------|------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| Canadá    | Folhas, casca do caule, castanha and pseudofruto. | Extrato hidroalcoólico e ácido anacárdico                                               | Camarões  | Cultura de células                          | C2C12 myoblasts                                    | –    | Extratos da castanha e o ácido anacárdico estimularam a captação de glicose. | Tedong <i>et. al.</i> , 2010            |
| Nigéria   | Casca do caule                                    | Extrato hidroalcoólico da casca do caule                                                | –         | Diabetes induzida por estreptozotocina      | Ratos Wistar                                       | Oral | Reduziu a hiperglicemia e controlou o peso.                                  | Eliakim-Ikechukwu <i>et. al.</i> , 2010 |
| Índia     | Casca do caule                                    | Extrato etanoico da casca do caule e frações acetato de etila, diclorometano e butanol. | Índia     | Diabetes induzida por estreptozotocina      | Ratos Wistar                                       | Oral | Efeito hipoglicemiante das frações acetato de etila e diclorometano          | Ramnik, 2010                            |
| Tailândia | Folhas                                            | Extrato aquoso das folhas                                                               | Tailândia | Cultura de células                          | Células do músculo esquelético de rato linhagem L6 | –    | Sem efeito na captação de glicose                                            | Noipha <i>et. al.</i> , 2010            |
| Nigéria   | Folhas                                            | Extrato metanólico das folhas                                                           | Nigéria   | Diabetes induzida por aloxano monohidratado | Ratos Wistar                                       | Oral | Efeito hipoglicemiante nas doses de 200, e 400mg/kg.                         | Fagbohun e Odufuwa, 2010                |
| Brasil    | Flores                                            | Extrato hidroalcoólico                                                                  | Brasil    | Camundongo geneticamente alterado           | Camundongo NOD                                     | Oral | Reduziu a glicemia                                                           | Silva e Guerra, 2010                    |
| Colômbia  | Pseudofruto                                       | Suco do pseudofruto                                                                     | Colômbia  | Experimental em humanos                     | Humanos                                            | Oral | Redução da resposta glicêmica pós-prandial                                   | Romero <i>et. al.</i> , 2012            |
| Iran      | Castanha                                          | Castanha                                                                                | –         | Ensaio clínico randomizado paralelo         | Humanos                                            | Oral | Evitou a redução de HDL-C e diminuiu a insulina sérica.                      | Shidfar <i>et. al.</i> , 2014           |

## 6. CONCLUSÕES

Os dados em conjunto mostram que *A. occidentale* é uma promissora espécie para o desenvolvimento de novas opções terapêuticas no controle do diabetes. Tendo em vista sua ampla utilização tradicional em varias populações, sua baixa toxicidade e comprovada atividade farmacológica em vários ensaios *in vivo* e *in vitro*. Entretanto são necessárias pesquisas que elucidem os mecanismos de ação e substâncias ativas responsáveis pelo efeito terapêutico, bem como estudos que comprovem a real segurança de seu uso, o que abre um grande e importante espectro de oportunidades para investigação.

## REFERENCIAS:

ADA - American Diabetes Association, 2013. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 36 (suppl. 1):S67-74.

Ademiluyi, A.O., Oboh, G., 2013. Aqueous Extracts of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) Varieties Inhibit alpha-Amylase and alpha-Glucosidase Activities In Vitro. Journal Of Medicinal Food 16, 88-93

Akinhanmi, T.F., Atasie, V.N., Akintokun, P.O., 2008. Research F. Chemical Composition and Physicochemical Properties Of Cashew nut (*Anacardium occidentale*) Oil and Cashew nut Shell Liquid. Journal of Agricultural Food, and Environmental Sciences 2.

Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P.Z., 1999. For the World Health Organization Consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO.

Albuquerque, J., 1989. Plantas Medicinais de uso popular. Brasília.

Albuquerque, U.P., Oliveira, R.F., 2007. Is the use-impact on native caatinga species in Brazil reduced by the high species richness of medicinal plants? Journal of Ethnopharmacology 113, 156-170.

Alencar, N.L., de Sousa Araújo, T.A., de Amorim, E.L.C., Albuquerque, U.P., 2010. The inclusion and selection of medicinal plants in traditional pharmacopoeias evidence in support of the diversification hypothesis. *Economic Botany*, 64(1), 68-79.

Alexander-Lindo R.L., Errol Y.St.A.M., Muraleedharan G.N., Donovan A.M., 2007. Effect of the Fractions of the Hexane Bark Extract and Stigmast-4-en-3-one Isolated from *Anacardium occidentale* on Blood Glucose Tolerance Test in an Animal Model. *International Journal of Pharmacology* 3, 41.

Alexander-lindo, R.L., Morrison, E.Y.St.A., Nair, M.G., 2004. Hypoglycaemic effect of stigmast-4-en-3-one and its corresponding alcohol from the bark of *Anacardium occidentale* (cashew). *Phytotherapy research* 18, 403-407.

Ali, H., Houghton, P.J., Soumyanath, A., 2006. [alpha]-Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *Journal of Ethnopharmacology* 107, 449-456.

Atta-ur-Rahman, K., Zaman, K., 1989. Medicinal plants with hypoglycemic activity. *Journal of Ethnopharmacology* 26, 1-55.

Baldé, N.M., Youla, A., Baldé, M.D., Kaké, A., Diallo, M.M., Baldé, M.A., Maugendre, D., 2006. Herbal medicine and treatment of diabetes in Africa: an example from Guinea. *Diabetes and Metabolism* 32, 171-175.

Baicker, K., Taubman, S.L., Allen, H.L., Bernstein, M., Gruber, J.H., Newhouse, J.P., Schneider, E.C., Wright, B.J., Zaslavsky, A.M., Finkelstein, A.N., 2013. The Oregon Experiment - Effects of Medicaid on Clinical Outcomes. *New England Journal Of Medicine* 368, 1713-1722.

Barcelos, G.R.M., Cólus, I.M.S., Tavares, D.C., Jordão B.Q., 2007. Avaliação da citotoxicidade, genotoxicidade e dos efeitos protetores do extrato de *Anacardium occidentale* L. *in vitro*. BDTD/IBICT. Universidade Estadual de Londrina; Centro de Ciências Biológicas; Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular.

Barcelos, G.R.M., Shimabukuro, F., Mori, M.P., Maciel, M.A.M., Cólus, I.M.S., 2007. Evaluation of mutagenicity and antimutagenicity of cashew stem bark methanolic extract in vitro. *Journal of ethnopharmacology* 114, 268-273.

Barko, R., Corbett, C.F., Allen, C.B., Shultz, J.A., 2011. Perceptions of Diabetes Symptoms and Self-Management Strategies: A Cross-Cultural Comparison. *Journal Of Transcultural Nursing* 22, 274-281.

Barrett, B., 1994. Plantas Medicinales de la Costa Atlantica de Nicaragua Medicinal Plants of Nicaragua's Atlantic Coast . *Economic Botany* 48, 8-20.

Barros, F.B., Varela, S.A., 2012. Pereira, Henrique M.; Vicente, Luis. Medicinal use of fauna by a traditional community in the Brazilian Amazonia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 8, p.37.

Bever, B.O., 1980. Oral hypoglycaemic plants in West Africa. *Journal of Ethnopharmacology* 2, 119-127.

Boopathy, R.A., Elanchezhiyan, C., Sethupathy, S., 2010. Antihyperlipidemic activity of *Helicteres isora* fruit extract on streptozotocin induced diabetic male Wistar rats. *European review for medical and pharmacological sciences* 14, 191-196.

Carrera, B.C.A., Martínez-Moreno, J.M., 2013. Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: beyond the duo "insulin resistance-secretion deficit". *Nutrición hospitalaria* 28, 78-87.

Carvalho, A.L.N., Annoni, R., Silva, P.R.P., Borelli, P., Fock, R.A., Trevisan, M.T.S., Mauad, T., 2011. Acute, subacute toxicity and mutagenic effects of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) in mice. *Journal Ethnopharmacology* 135, 730-736.

Chawla, R., Thakur, P., Chowdhry, A., Jaiswal, S., Sharma, A., Goel, R., Sharma, J., Priyadarshi, S.S., Kumar, V., Sharma, R.K., Arora, R., 2013. Evidence based herbal drug standardization approach in coping with challenges

of holistic management of diabetes: a dreadful lifestyle disorder of 21st century. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 35.

Chhabra, S.C., Mahunnah, R.L.A., Mshiu, E.N., 1993. Plants used in traditional medicine in Eastern Tanzania. VI. Angiosperms (Sapotaceae to Zingiberaceae). *Journal of Ethnopharmacology* 39, 83-103.

Chrcheva-Nikolovska, R., Sekulovski, P., Jankuloski, D., Angelovski, L., 2013. The influence of nutrition (diet treatment) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Macedonian Veterinary Review* 36, 41.

Coffman, M.J., Norton, C.K., Beene, L., 2012. Diabetes symptoms, health literacy, and health care use in adult Latinos with diabetes risk factors. *J Cult Divers* 19, 4-9.

Cruz, G., 1985. *Dicionário de Plantas úteis do Brasil*. Rio de Janeiro: Ed. Civilização Brasileira.

Deeds, M.C., Anderson, J.M., Armstrong, A.S., Gastineau, D.A., Hiddinga, H.J., Jahangir, A., Eberhardt, N.L., Kudva, Y.C., 2011. Single dose streptozotocin-induced diabetes: considerations for study design in islet transplantation models. *Laboratory animals* 45, 131-140.

DeFronzo, R.A., Eldor, R., Abdul-Ghani, M., 2013. Pathophysiologic approach to therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care* 36, 127-138.

De Melo, A.F.M., Albuquerque, M.M., Da Silva, M.A.L., Gomes, G.C., Cruz, I.D.S.V., Leite, V.R., Higino, J.S., 2006. Evaluation of the subchronic toxicity of the crude dry extract of *Anacardium occidentale* Linn in dogs. *Acta Scientiarum - Health Sciences* 28, 37-41.

De Souza-Sartori, J.A., Scalise, C., Baptista, A.S., Lima, R.B., Aguiar, C. L. 2012. Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com atividade antioxidante total= Parameters of

influence on extraction of phenolic compounds from sugarcane tops with total antioxidant activity. *Bioscience Journal*, 29(2).

Dias, J.C.R., Campos, J.A.D.B. 2012. Diabetes mellitus: razão de prevalências nas diferentes regiões geográficas no Brasil, 2002-2007. *Ciência & Saúde Coletiva*, 17(1), 239-244.

Diallo, A., Traore, M.S., Keita, S.M., Balde, M.A., Keita, A., Camara, M., Miert, S.V., Pieters, L., Balde, A.M., 2012. Management of diabetes in Guinean traditional medicine: An ethnobotanical investigation in the coastal lowlands. *Journal of Ethnopharmacology* 144, 353-361.

Dos Santos, M.L., De Gois, M.C. 2013. BIOÉTICA: Algumas Considerações Acerca das Questões Éticas em Pesquisas com Seres Humanos. *Revista Direito em Debate*, 16(27-28).

Eliakim-Ikechukwu, C.F., Obri, A.I., Akpa, O.A., 2010. Phytochemical and micronutrient composition of *Anacardium occidentale* Linn (cashew) stem-bark hydroethanolic extract and its effect on the fasting blood glucose levels and body weight of diabetic wistar rats. *The Internet Journal of Nutrition and Wellness* 10.

Elisabetsky, E., Shanley, P., 1994. Ethnopharmacology in the Brazilian Amazon. *Pharmacology and Therapeutics*, 64, 201-214.

Fagbohun, T.R., Odufuwa, K.T., 2010. Hypoglycemic effect of methanolic extract of *Anacardium occidentale* leaves in alloxan-induced diabetic rats. *Nigerian journal of physiological sciences: official publication of the Physiological Society of Nigeria* 25, 87-90.

Fátima, A., Agrawal, P., Singh, P.P., 2012. Herbal option for diabetes: an overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2, 536-544.

Fazil, F., Amom, Z., Esa, N.M., Hasan, M.K.N., Kadir, K.K.A., Shah, Z.M., Sulaiman, S., 2011. Toxicity screening and hypocholesterolemic effect evaluation of aqueous extract of *Anacardium occidentale* Linn. in

hypercholesterolemic induced Rabbits. International Journal of Phytomedicine 3, 192-197.

Fernandes, L., Casal, S., Pereira, J. A., Saraiva, J., & Ramalhosa, E. 2014. Influência do solvente de extração no conteúdo em compostos bioativos e atividade antioxidante de perpétuas roxas (*Gomphrena globosa* L.).

Gautam, K., Kumar, P., Jain, C., 2013. Comparative study of alpha amylase inhibitory activity of flavonoids of *Vitex negundo* Linn. and *Andrographis paniculata* Nees. International Journal of Green Pharmacy 7, 25-28

George, J., Kuttan, R., 1997. Mutagenic, carcinogenic and cocarcinogenic activity of cashewnut shell liquid. Cancer letters 112, 11-16.

Gerstein, H.C., Mohan, V., Avezum, A., Bergenstal, R.M., Chiasson, J.L., Garrido, M., MacKinnon, I., Rao, P.V., Zinman, B., Jung, H., Joldersma, L., Bosch, J., Yusuf, S., 2011. Long-term effect of rosiglitazone and/or ramipril on the incidence of diabetes. Diabetologia 54, 487-495.

Hakkarainen, J.J., Jalkanen, A.J., Kääriäinen, T.M., Keski-Rahkonen, P., Venäläinen, T., Hokkanen, J., Mönkkönen, J., Suhonen, M., Forsberg, M.M., 2010. Comparison of in vitro cell models in predicting in vivo brain entry of drugs. International Journal of Pharmaceutics 402, 27-36.

Harvey, L.A., 2010. Plant Natural Products in Anti-Diabetic Drug Discovery. Current Organic Chemistry 14, 1670-1677.

Hirst, J.A., Farmer, A.J., Ali, R., Roberts, N.W., Stevens, R.J., 2012. Quantifying the Effect of Metformin Treatment and Dose on Glycemic Control. Diabetes care 35, 446-454.

Johnson, D., 1973. The botany, origin, and spread of the cashew *Anacardium occidentale* L. Journal of Plantation Crops 1, 1-7.

Kamtchouing, P., Sokeng, S.D., Moundipa, P.F., Watcho, P., Jatsa, Hermine B., Lontsi, D. 1998. Protective role of *Anacardium occidentale* extract against

streptozotocin-induced diabetes in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 62, 95-99.

Kazeem, M.I., Abimbola, S.G., Ashafa, A.O.T., 2013. Inhibitory potential of *Gossypium arboreum* leaf extracts on diabetes key enzymes, alpha-amylase and alpha-glucosidase. *Bangladesh Journal Of Pharmacology* 8, 149-155.

Khera, N., Bhatia, A., 2014. Medicinal plants as natural anti-diabetic agents. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 5, 713-730.

Konan, N.A., Bacchi, E.M., 2007. Antiulcerogenic effect and acute toxicity of a hydroethanolic extract from the cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves. *Journal of Ethnopharmacology* 112, 237-242.

Konan, N.A., Bacchi, E.M., Lincopan, N., Varela, S.D., Varanda, E.A., 2007. Acute, subacute toxicity and genotoxic effect of a hydroethanolic extract of the cashew (*Anacardium occidentale* L.) *Journal of Ethnopharmacology* 110, 30-38.

Konan, N.A., Lincopan, N., Collantes Díaz, I.E., de Fátima Jacysyn, J., Tanae Tiba, M.M., Pessini Amarante Mendes, J.G., Bacchi, E.M., Spira, B., 2012. Cytotoxicity of cashew flavonoids towards malignant cell lines. *Experimental and Toxicologic Pathology* 64, 435-440.

Kumar, V., Bhandari, U., Tripathi, C., Khanna, G., 2013. Ameliorative effect of ethanolic *Gymnema sylvestre* extract on diabetic cardiomyopathy against streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. *International Journal of Green Pharmacy* 7, 6-11.

Kunwar, R. M., Mahat, L., Acharya, R. P., Bussmann, R. W. 2013. Medicinal plants, traditional medicine, markets and management in far-west Nepal. *J Ethnobiol Ethnomed*, 9, 24.

Lee, Bao-Hong, Lee, Chia-Chen, Wu, She-Ching., 2014. Ice plant ( *Mesembryanthemum crystallinum* ) improves hyperglycaemia and memory

impairments in a Wistar rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94, 2266-2273.

Lee, J.; Dang, D.K. 2012. Diabetes mellitus: Pathophysiology, diagnosis, screening, and risk factors. *Drug Topics* 156, 44-51.

Lorenzi H.M.J.A., 2002. *Plantas Medicinais do Brasil: nativas, exóticas e cultivadas*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarium.

Malerbi, D. A., Franco, L. J., 1992. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 Yr. *Diabetes Care*, 15:1509-1516.

Malta, D.C., Iser, B.P.M., Andrade, S.S.C.A., Moura, L., Oliveira, T.P., Bernal, R.T.I. 2014. Tendência da prevalência do diabetes melito autorreferido em adultos nas capitais brasileiras, 2006 a 2012. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 23(4), 753-760.

Marles, R.J., Farnsworth, N.R., 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2, 137-189.

Mazzari, A.L.D.A, Prieto, J.M., 2014. Herbal medicines in Brazil: pharmacokinetic profile and potential herb-drug interactions. *Frontiers in Pharmacology* 5.

Melo Cavalcante, A.A., Rubensam, G., Picada, J.N., Gomes Da Silva, E., Fonseca Moreira, J.C., Henriques, J.A.P., 2003. Mutagenicity, antioxidant potential, and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuína. *Environmental and molecular mutagenesis* 41, 360-369.

Menichini, F., 2010. Natural Products as Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 10, 315-331.

Noipha, K., Ratanachaiyavong, S., Ninla-aesong, P., 2010. Enhancement of glucose transport by selected plant foods in muscle cell line L6. *Diabetes Research and Clinical Practice* 89, 22-26.

Nwauzoma, A.B., Dappa, M.S., Culianez-Macia, F.A., Maatooq, G.T., Weir, T.L., 2013. Ethnobotanical Studies of Port Harcourt Metropolis, Nigeria. *International Scholarly Research Notices*, 11.

Okonkwo, T.J.N., Okorie, O., Okonta, J.M., Okonkwo, C.J., 2010. Sub-chronic Hepatotoxicity of *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) Inner Stem Bark Extract in Rats. *Indian Journal Of Pharmaceutical Sciences* 72, 353-357.

Olatunji, L.A., Okwusidi, J.I., Soladoye, A.O., 2005. Antidiabetic effect of *Anacardium occidentale* stem-bark in fructose-diabetic rats. *Pharmaceutical Biology* 43, 589-593.

Oliveira, J.E.P., Milech, A., 2004. Editors. Diabetes mellitus: clínica, diagnóstico e controle multidisciplinar. São Paulo: Atheneu.

Oliveira, J.E.P., Monteiro, J.B.R., Araújo, C.G.S., 2003. Diabetes mellitus tipo 2: terapêutica clínica prática. Rio de Janeiro: Med Line.

Pacheco, G. F. E., Saad, F. M. D. O. B., Trevizan, L. 2013. Aspectos éticos no uso de animais de produção em experimentação científica. *Acta Veterinaria Brasilica*, 6(4), 260-266.

Padberg, I., Peter, E., González-Maldonado, S., Witt, H., Mueller, M., Weis, T., Bethan, B., Liebenberg, V., Wiemer, J., Katus, H.A., Rein, D., Schatz, P.A., 2014. New metabolomic signature in type-2 diabetes mellitus and its pathophysiology. *PLoS ONE*(PLoS ONE) 9.

Patel, D.K., Kumar, R., Laloo, D., Hemalatha, S., 2012. Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2, 239-250.

Queiroz, S.C.N., Collins, C.H., Jardim, I.C.S.F., 2001. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. *Quim. Nova* 24, 68-76.

Raman, B.V., Naga Vamsi, K.A., Narasimha, R.B., Pardha, S.M., Basaveswara, R.M.V., 2012. Plants with antidiabetic activities and their medicinal values. *Internacional Research Journal of Pharmacy* 3, 11.

Ramnik, S., 2010. Antihyperglycemic effect of ethanolic extract and fractions of *Anacardium occidentale* L. stem bark in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy* 1, 16.

Rawat, A., Bhardwaj, U., Burgess, D.J., 2012. Comparison of *in vitro in vivo* release of Risperdal® Consta® microspheres. *International Journal of Pharmaceutics* 434, 115-121.

Rodrigues, M. D. R. L. 2012. Farmacotécnica Homeopática.

Roglic, G., Unwin, N., Bennett, P.H., Mathers, C., Tuomilehto, J., Nag, S., 2005. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. *Diabetes Care* 28, 2130-2135.

Romero Dominguez, M.J., Bravo Henriquez, A.R., Maury Sintjago, E.A., Esteva Ferrer, E.K., 2012. Efectos del consumo de una bebida de cajuil (*Anacardium occidentale*) sobre la respuesta glucémica e insulínica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.(INVESTIGACION). *Perspectivas en Nutrición Humana* 14, 11.

Samad, A., Shams, M.S., Ullah, Z., Wais, M., Nazish, I., Sultana, Y., 2009. Status of herbal medicines in the treatment of diabetes: a review. *Curr Diabetes Rev* 5, 102-111.

Santos, C.B., Bernardino, G.Z., Soares, F.J., Espindola, J.D., Arruda, P.M.R., Paula, J.R., Bara, M.T.F. 2014. Preparo e caracterização de tinturas das folhas de chá verde [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] Theaceae. *Rev. bras. plantas med*, 16(4), 826-831.

Saravanamuttu, S., Sudarsanam, D. 2012. Antidiabetic plants and their active ingredients: a review.(Report). International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 3, 3639-3651.

SDB, 2014. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014/Sociedade Brasileira de Diabetes. São Paulo: AC Farmacêutica.

Shankar, M.K., Kiran, B.R., 2012. Medicinal plants used as an antidiabetic drug in pharmaceutical industry and their conservation: an overview. Internacional Research Journal of Pharmacy 3, 65.

Shidfar, F., Darvish, R., Rajab, A., Mohammadi, V., Hosseini, S., 2014. O187 The Effects Of Cashew Consumption On Serum Glucose, Insulin And Lipoprotein In Type 2 Diabetic Patients. Global Heart 9, 45-45.

Sim, L., Jayakanthan, K., Mohan, S., Nasi, R., Johnston, B.D., Pinto, B.M., Rose, D.R., 2010. New glucosidase inhibitors from an ayurvedic herbal treatment for type 2 diabetes: structures and inhibition of human intestinal maltase-glucoamylase with compounds from *Salacia reticulata*. Biochemistry 49, 443-51.

Tédong, L., Djomeni Dzeufiet, D. Dimo, T., Asongalem, A., Sokeng, S., Flejou, J., Callard, P., Kamtchouing, P., 2007. Effet de l'extrait à l'hexane des feuilles d' *Anacardium occidentale* L. (Anacardiacees) sur la fonction de reproduction chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine. Phytothérapie 5, 182-193.

Tedong, L., Madiraju, P., Martineau, L.C., Vallerand, D., Arnason, J.T., Desire, D.D.P., Lavoie, L., Kamtchouing, P., Haddad, P.S., 2010. Hydro-ethanolic extract of cashew tree (*Anacardium occidentale*) nut and its principal compound, anacardic acid, stimulate glucose uptake in C2C12 muscle cells. Molecular Nutrition & Food Research 54, 1753-1762.

Verzár, R., Petri, G., 1987. Medicinal plants in Mozambique and their popular use. Journal of Ethnopharmacology 19, 67-80.

Wang, C., Wang, S., Ko, W., Chen, Y., Chang, C., Chang, R., Chang, K., 2013. Acetyl-L-carnitine and oxfenicine on cardiac pumping mechanics in streptozotocin-induced diabetes in male Wistar rats. PloS one 8, 69977.

WHO - World Health Organization, 2002. Diabetes: the cost of diabetes. WHO fact sheet. September, n. 236

WHO., 2014. Prevalence of diabetes worldwide. Access: 20/08/2014 [[http://www.who.int/diabetes/facts/world\\_figures/en/](http://www.who.int/diabetes/facts/world_figures/en/)]

Wild S., Roglic G., Green A., Sicree R., King H., 2004. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care 27, 1047-1053.

#### 4. CAPÍTULO 2

Artigo: Efeito de *Anacardium occidentale* L.sobre a inibição enzimática *in vitro*, glicemia e produção de insulina no diabetes murino.

A ser submetido ao Journal of Ethnopharmacology - Elsevier

Endereço:

<http://www.journals.elsevier.com/journal-of-ethnopharmacology/>

**Título:** Efeito de *Anacardium occidentale* L.sobre a inibição enzimática *in vitro*, glicemia e produção de insulina no diabetes murino.

**Os nomes dos autores e afiliações:**

Tonicley Alexandre da Silva<sup>a</sup>, Rosane Nassar Meireles Guerra<sup>b</sup>.

<sup>a</sup>Estudante de Doutorado da Universidade Federal do Maranhão,

<sup>b</sup>Professora Doutora do Departamento de Patologia da Universidade Federal do Maranhão.

**Endereço para correspondência:**

Laboratório de Imunofisiologia – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – Prédio do Ensino Integrado, Bloco 1, sala 1<sup>a</sup> - Campus Universitário do Bacanga – Av. dos Portugueses, 1966, São Luís, MA - Brasil / CEP 65080-805

Email: rnmguerra@pq.cnpq.br

**RESUMO:**

**Objetivo:** Avaliar o efeito de *A. occidentale* no diabetes considerando a inibição enzimática *in vitro*, glicemia e a concentração de insulina em camundongos.

**Materiais e Métodos:** Os testes *in vitro* avaliaram o efeito dos extratos hidroalcoólicos das flores (EFL), folhas (EF) e casca (EC) do caule de *A. occidentale* e dos compostos ácidos anacárdico (AA), chiquímico (AC), gálico (AG) e elágico (AE), bem como de misturas desses compostos, nas concentrações de 0,5; 5; 50 e 500 mg/mL sobre a inibição das enzimas  $\alpha$ -amilase e da  $\alpha$ -glicosidase. Nos ensaios *in vivo* foram avaliados os efeitos de diferentes doses do EFL (0,5; 5; 50 e 500mg/Kg) em camundongos Swiss machos, três meses de idade, com diabetes foi induzida com estreptozotocina e frutose. Os animais foram avaliados quanto a tolerância oral a glicose, variação glicêmica; consumo de água e ração; variação ponderal; concentração de hemoglobina glicada (cromatografia); concentração de frutossaminas, triglicérides; colesterol total, frações HDL e LDL, por ensaio colorimétrico; produção insulina e de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-4 e IL-10 por ensaio imunoenzimático - ELISA.

**Resultados:** O EFL foi o mais efetivo em inibir a atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, mesmo nas menores concentrações, possivelmente devido a presença do ácido anacárdico e elágico, já que estes dois compostos do extrato, quando avaliados isoladamente, ou em associação com o ácido chiquímico, apresentaram efeito similar ao EFL. Na avaliação *in vivo*, realizada só com o EFL, ocorreu redução do pico glicêmico, do consumo de água e de ração, da concentração de hemoglobina glicada, frutossaminas, triglicérides, colesterol total e fração LDL. Por outro lado, o tratamento com EFL aumentou o colesterol HDL e a concentração de citocinas anti-inflamatórias IL-10 e IL-4.

**Conclusões:** O extrato hidroalcoólico das flores foi o mais efetivo no controle do diabetes, por ação inibitória das enzimas  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase, bem como por modulação do processo auto-imune devido o aumento na produção de IL-4 e IL-10, possivelmente decorrentes do fitocomplexo presente no EFL.

**Termos de indexação:** diabetes,  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -glicosidase, *Anacardium occidentale* L.

**Classificação:** Artigo de pesquisa original

## 1. INTRODUÇÃO:

O diabetes mellitus (DM) é considerado um problema de saúde pública em países devido às suas complicações crônicas macro e microvasculares, com grande impacto na morbimortalidade dos pacientes. A doença é o estágio final de uma síndrome crônica e progressiva, cujas anormalidades fisiopatológicas iniciam-se anos antes do diagnóstico clínico da doença. Pacientes com diabetes mellitus apresentam hiperglicemia, decorrente de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou das duas situações, resultando em hiperglicemia crônica com distúrbios no metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios. (Lee e Dang, 2012; DeFronzo *et. al.*, 2013; Carrera e Martínez-Moreno, 2013; Padberg *et. al.*, 2014;).

O melhor controle da glicemia, da pressão arterial e da dislipidemia resulta em uma redução significativa nas complicações microvasculares, no desenvolvimento da doença arterial coronariana e cerebrovascular e mesmo de óbito. Assim, os medicamentos para o controle do diabetes têm como principal efeito a normoglicemia e a redução da resistência à insulina, visando melhorar o controle metabólico e prevenir as complicações decorrentes (Padberg *et. al.*, 2014).

Os principais grupos de medicamentos com ação antidiabetes incluem: *Sulfonilureias e glitinidas*: incrementam a secreção pancreática de insulina, agem diretamente nas células beta, estimulando a produção e a liberação de insulina no pâncreas e, com isso, diminuem a glicose no plasma; *Biguanidas*: diminuem a produção hepática de glicose evitando que seja liberada mais insulina. Diminuem também a resistência a insulina; *Glitazonas*: são drogas sensibilizadoras da ação da insulina, aumentam a utilização periférica de glicose e apresentam efeito incretina mediado pelos hormônios GLP-1 e GIP, considerados peptídeos insulínotropicos dependentes de glicose; Inibidores da  $\alpha$ -glicosidase: reduzem a hiperglicemia pós-prandial, pois retardam a absorção de glicose e inibem a hidrólise de carboidratos no trato digestivo por isso são geralmente utilizados na abordagem terapêutica para o tratamento precoce do diabetes (Oliveira *et. al.*, 2003; Oliveira e Milech, 2004, Olokoba *et. al.*, 2012; SBD, 2014; Kahn *et. al.*, 2014).

As drogas antidiabeticas incluindo os inibidores das  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase possuem alguns efeitos adversos causando hipoglicemia em doses mais

elevadas, problemas de fígado, acidose láctica e diarreia (Scheen, 2003; Tudis *et. al.*, 2010; Kahn *et. al.*, 2014). Assim a prospecção e descoberta de novas drogas é sempre desejável, por isso muitos medicamentos à base de plantas têm sido utilizados para o tratamento do diabetes.

Medicamentos tradicionais a base de plantas são utilizados em todo o mundo com uma série de preparações devido à sua eficácia e grande apelo popular o que favorece a adesão ao tratamento (Heinrich, 2000; Junior *et. al.* 2005; Maxion-Bergemann *et. al.*, 2006). Entre as plantas medicinais tradicionalmente utilizadas como anti-diabetes está *Anacardium occidentale* (Cruz, 1985; Albuquerque, 1989; Lima, 2012).

*A. occidentale* L. é espécie nativa do Brasil, embora tenha ampla distribuição mundial e seja frequentemente utilizada nos países africanos, asiáticos e da América central (Cruz, 1985; Albuquerque, 1989). A avaliação química mostra que mostraram que a espécie é rica em compostos fenólicos, ácidos orgânicos e flavonoides (Da Silva, 2012), entre os constituintes químicos de interesse clínico, podemos citar os ácidos anacárdico, chiquímico, gálico e elágico, compostos encontrados com maior abundância nas partes aéreas dessa espécie (Chaves, *et. al.* 2010, Tedong, *et. al.* 2010, Punithavathi, 2011, , Malini, *et. al.*, 2011; Orhan, *et. al.* 2012; Da Silva, 2012).

Os ácidos anacárdicos (AAs) são compostos fenólicos biosintetizados a partir de ácidos graxos presentes nos extratos das partes aéreas de *A. occidentale*, já foram identificados em elevadas concentrações na casca, nas folhas, no pseudo (Trevisan, *et. al.*, 2006) e nas flores (Da Silva, 2012). Apresentam atividade antioxidante (Trevisan, *et. al.* 2006), atividade antituberculosa (Green *et. al.* 2007, Da Silva, 2012) entre outras atividades biológicas. (Subbarao *et. al.* 2011, Hemshekhar *et. al.* 2012).

O ácido chiquímico mais conhecido pela sua forma aniônica, xiquimato, é um importante composto intermediário em vias bioquímicas de vegetais e microorganismos (Bochkov *et. al.* 2012, Rawat *et. al.* 2013).

O ácido gálico deriva da via do ácido chiquímico, um intermediário do metabolismo secundário, e é um componente de taninos hidrolisáveis em plantas. (Ow e Stupans 2003, Daglia *et. al.* 2014).

O ácido elágico é uma lactona fenólica presente na forma de elagitaninos, como componente estrutural da membrana e parede celular vegetal (Vattem e Shetty, 2005).

Os efeitos anti-diabetes de *A. occidentale* tem sido avaliado principalmente em ratos nos quais o diabetes foi induzido por estreptozotocina. Os resultados mostraram que o tratamento com extratos de *A. occidentale* reduz o peso corporal; a concentração sérica de glicose e a glicosúria (Kamtchouing *et. al.*, 1998; Ojewole, 2003; Alexander-Lindo *et. al.*, 2004; Tedong *et. al.*, 2006).

O modelo de indução de diabetes por estreptozotocina ou aloxana em roedores é amplamente aceito e por isso muito utilizado, pois simula nos animais sinais e sintomas característicos do diabetes (Marles e Farnsworth, 1995; Nishigaki *et. al.*, 1989; Katsumata, *et. al.*, 1992; Islam e Choi, 2007). Além disso, a estreptozotocina é incapaz de induzir resistência insulínica diretamente, mas é eficaz em induzir hiperglicemia decorrente de lesão pancreática direta das células beta (Srinivasan *et. al.*, 2005).

A indução de resistência insulínica pode ocorrer pela adição de frutose na alimentação (Daí, *et. al.*, 1994; Hininger-Favier, *et. al.*, 2009). Além disso, tem sido relatado que somente alimentação frutose por um longo período, pode levar a tolerância nutricional sem que seja evidenciados os sinais e sintomas de intolerância à glicose e resistência insulínica (Stark *et. al.*, 2000). Assim, modelos experimentais que combinem alimentação com frutose e uma baixa dose de estreptozotocina, por um período curto tem sido utilizados como estratégia nos estudos voltados a avaliação e desenvolvimento de novas drogas com efeitos nas principais alterações da patogênese do diabetes tipo 2 (Wilson e Islam, 2012). Com base nessas considerações foi objetivo desse estudo avaliar o efeito do *Anacardium occidentale* sobre o diabetes a partir de ensaios *in vitro* e *in vivo*.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS:**

### **2.1 Preparação dos extratos**

As flores, folhas e cascas foram coletadas na Universidade Federal do Maranhão, Campus do Bacanga, São Luis – MA, Brasil, no mês de Agosto de 2014, época da floração, no período das 7 às 8 horas da manhã, com auxílio de um instrumento de cortante afiado e um recipiente de coleta para não danificar o material. O vegetal foi identificado e a exsicata está depositada no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão sob o nº 660/SLS/017213.

As flores, folhas e cascas foram secas, ao abrigo da luz solar, sob ventilação natural, a temperatura ambiente ( $\pm 26^{\circ}\text{C}$ ), durante 7 dias. Após secas foram moídas em moinho tipo faca. O pó foi então submetido à operação extrativa por remaceração em etanol a 70%, na proporção de 1/5, a temperatura ambiente, em 3 etapas de 7 dias cada etapa, totalizando-se 21 dias, como rendimento final do processo extrativo de 35%. Ao final de cada etapa obteve-se o extrato bruto por filtração em papel de filtro. O extrato hidroalcoólico (EH) foi evaporado sob pressão reduzida a  $60^{\circ}\text{C}$ , em evaporador rotatório, a 120 rpm. Alíquotas do extrato foram congeladas a  $-18^{\circ}\text{C}$ , para posterior liofilização.

### **2.2 Tratamento com os extratos e constituintes químicos de *A. occidentale*:**

Foram utilizados nos ensaios in vitro os seguintes extratos e compostos, isolados ou em associação como listado a seguir:

| EXTRATOS                                            |                       | COMPOSTOS                                |                                                      |                                                                     |
|-----------------------------------------------------|-----------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Extrato<br>hidroalcoólico das<br>flores (EFL)       | Ácido anacárdico (AA) | Ácido anacárdico e<br>chiquímico (AA+AC) | Ácido chiquímico, gálico e<br>elágico (AC+AG+AE)     | Ácidos anacárdico,<br>chiquímico, gálico e<br>elágico (AA+AC+AG+AE) |
|                                                     | Ácido elágico (AE)    | Ácido anacárdico e<br>gálico (AA+AG)     | Ácido anacárdico, elágico<br>e chiquímico (AA+AE+AC) |                                                                     |
| Extrato<br>hidroalcoólico das<br>folhas (EF)        | Ácido gálico (AG)     | Ácido anacárdico e<br>elágico (AA+AE)    | Ácido anacárdico, gálico e<br>chiquímico (AA+AG+AC)  |                                                                     |
|                                                     | Ácido chiquímico (AC) | Ácido chiquímico e<br>gálico (AC+AG)     | Ácido anacárdico, gálico e<br>elágico (AA+AG+AE)     |                                                                     |
| Extrato<br>hidroalcoólico da<br>casca do caule (EC) |                       | Ácido chiquímico e<br>elágico (AC+AE)    |                                                      |                                                                     |
|                                                     |                       | Ácido gálico e elágico<br>(AG+AE)        |                                                      |                                                                     |

Os ácidos anacárdico, chiquímico, gálico e elágico foram obtidos da SIGMA-ALDRICH® e todos os extratos, compostos e misturas de compostos testadas foram diluídas em PBS (solução salina tamponada com fosfato – Phosphate Buffered Salt solution) nas concentrações de 0,5; 5; 50 e 500 mg/mL. Foi utilizada como controle a solução de PBS.

### **2.3 Teste de inibição da $\alpha$ -amilase**

A 40  $\mu$ L de  $\alpha$ -amilase de saliva humana obtida da (Código A0521, SIGMA-ALDRICH®) na concentração de 160 U/L em PBS 1X (Solução salina tamponada com fosfato - NaCl 137 mM, Fosfato 10 mM, KCl 2.7 mM, pH de 7.4) foram adicionados 80 $\mu$ L das substancias teste (item 2.2), foi incubada por 10 minutos, a 25°C, em placas de 96 poços (Apostolidis e Lee, 2010) nas concentrações de 0,5, 5, 50 e 500 mg/mL. Foi utilizada como controle a solução de PBS.

Após a pré-incubação da enzima com as substancias teste foram adicionados a cada um dos poços 200  $\mu$ L do substrato AMILASE CNPG Liquiform – (Ref. 25 LABTEST®). Após incubação por 1 minuto foi realizada a leitura da absorbância inicial (A1), sendo repetida a leitura após 2 minutos (A2). As leituras utilizaram o filtro de 405 nm, conforme instruções do fabricante. Os resultados foram expressos como Atividade da  $\alpha$ -amilase (U/L).

### **2.4 Teste de inibição da $\alpha$ -glicosidase**

A 40  $\mu$ L de  $\alpha$ -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae* (Código G5003, SIGMA-ALDRICH®) ajustada a concentração de 160 U/L em PBS 1X foram adicionados 80 $\mu$ L das substancias teste (vide item 2.2) e as amostras foram incubadas por 10 minutos, a 25°C, em placas de 96 poços (Apostolidis e Lee, 2010), nas concentrações de 0,5, 5 50 e 500 mg/mL. . Foi utilizada como controle a solução de PBS.

Após a pré-incubação com as substâncias testes foi adicionado a cada poço 200 µL da mistura de reação mestre, composta na proporção de 200 µL de solução tampão de ensaio e 8 µL do substrato  $\alpha$ -NPG, (Código MAK123, KIT  $\alpha$ -glicosidase Activity assay, SIGMA-ALDRICH®), sendo imediatamente realizada a leitura da absorbância inicial (A1), em seguida a placa foi incubada por mais 20 minutos, a 37°C, e nova leitura foi realizada e considerada como A2. Todas as leituras foram realizadas a 405 nm, conforme instruções do fabricante (SIGMA-ALDRICH®). Os resultados foram expressos em Atividade da  $\alpha$ -glicosidase (U/L).

## 2.5 Tratamento dos animais

Para a realização dos ensaios foram utilizados camundongos Swiss, machos, adultos com idade de 3 meses e peso entre 30g e 35g antes da indução de diabetes e 45g e 55g após indução, procedentes do Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão - UFMA (São Luís-MA). Os animais receberam ração padronizada do laboratório e água *ad libitum*. Antes de iniciar o tratamento com os extratos todos os animais passaram por um processo de indução da diabetes na qual foi induzida por alimentação dos animais com 40% frutose misturado a água, *ad libitum*, durante 2 semanas, após este período todos receberam uma dose de 40mg/Kg de streptozotocina da Sigma-Aldrich® de acordo com a realizado por e foram monitorados por mais duas semanas até os animais apresentarem média de glicose sanguínea  $\geq 200$  mg/dL (Wilson e Islam, 2012) .

O projeto foi aprovado sob o número 007/2010 em 06/06/2010 pela Comissão de Ética Experimentação Animal da Universidade Estadual do Maranhão.

Após a indução da diabetes os animais foram aleatoriamente distribuídos em 6 grupos, com 5 animais cada. Antes do início do tratamento todos os animais foram pesados. Os animais receberam EFL nas doses de 0,5(EFL 0,5), 5 (EFL5), 50(EFL50) e 500 (EFL500) mg/Kg e foram comparados ao grupo que recebeu salina e ao grupo tratado com Metformina 10 mg/Kg do laboratório Medley®, utilizando como referência a dose mínima recomendada pelo fabricante para o início do tratamento da diabetes. Foi considerado como tratamento subcrônico a administração diária, por via oral, durante 2 semanas, conforme a legislação brasileira, ANVISA (Resolução RE nº 90, de 16 de março de 2004 e Portaria nº 116,

de 08 de agosto de 1996). Na 2ª semana foram coletadas amostras de sangue, por punção do plexo retro-orbital, para realização de ensaios bioquímicos e imunológicos.

**2.5.1 Teste de Tolerância Oral a Glicose:** No primeiro dia de ensaio após a indução da diabetes os animais receberam oralmente 30mg/Kg de solução de glicose a 30%. Cinco minutos após os animais foram tratados com uma única dose do produto. A determinação da glicose sanguínea ocorreu antes do início do ensaio e nos intervalos de 10, 30, 60 e 120 minutos após a administração do extrato de acordo com (Henriques, 2013; Biswas e Acharya, 2013).

**2.5.2 Avaliação do Consumo de água e ração:** A avaliação ocorreu em gaiolas onde os animais foram avaliados em grupo durante 14 dias consecutivos após o início do tratamento com os extratos, considerando os valores diários de consumo.

**2.5.3 Determinação da Glicose Sanguínea:** Foi realizada, após sangria da extremidade da cauda, com auxílio de um glicosímetro digital (On Call Plus-ACON®), usando-se tiras reativas específicas.

**2.5.4 Dosagem de Hemoglobina Glicosilada, Frutosaminas, Triglicérides; Colesterol Total e Frações:** amostras de sangue, obtidas sem a presença de anti-coagulantes foram centrifugadas para obtenção do soro que foi utilizado na avaliação da concentração de triglicérides, colesterol total, HDL, LDL e demais parâmetros, sempre conforme o descrito pelo fabricante (Labtest®, Brasil)

**2.5.5 Dosagem de Insulina:** Foi realizada por ELISA utilizando o kit comercial (código RAB0817 SIGMA-ALDRICH®), com sensibilidade de 2 mcUI/mL e coeficientes de variação inter e intra-ensaio de 10% e 12%, respectivamente.

**2.5.6 Dosagem das citocinas:** A concentração das citocinas IL4, IL-10; TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  foram quantificadas no soro, por ensaio imunoenzimático, conforme método descrito pelo fabricante (eBioscience, USA).

## **2.6 Análise Estatística**

Os valores foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão, e percentual de inibição considerado amostras individuais testadas em triplicata para cada uma das soluções testadas. Em seguida, os dados foram submetidos à ANOVA, seguida dos testes de Tukey-Kramer ou ao teste de Kruskal-Wallis, ou do pós-teste de Dunns, dependendo do ensaio. Em todos os casos foi considerado como nível de significância  $p < 0,05$ . Utilizou-se os softwares GraphPad Prism 5 e Excel 2007 como suporte para tabulação e análise dos dados.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

#### 3.1 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-DIABETES DE *A.occidentale* *in vitro*

O extrato das flores foi o mais eficaz em inibir as enzimas  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase, mesmo nas menores concentrações (0,5 e 5 mg/Kg). Tanto na comparação com os demais extratos como na comparação com os compostos isolados, como mostram as tabelas 1 e 2.

O extrato das flores foi o que apresentou maior atividade na inibição das enzimas  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase, corroborando com dados anteriores, que avaliaram o efeito de *A.occidentale* no controle do diabetes (Ali *et. al.*, 2006; Eliakim-Ikechukwu *et. al.*, 2010; Ramnik, 2010). Contudo merece especial atenção a elevada inibição ocasionada pelo EFL, inclusive nas concentrações mais baixas (Tabelas 1 e 2), razão pela qual investigamos também os efeitos inibitórios de compostos frequentemente identificados nas partes aéreas do cajueiro.

Os ácidos anacárdico e elágico apresentaram maior efeito inibitório em relação aos demais compostos, quando avaliamos o efeito das substancias isoladas ou em misturas. Embora também tenhamos observado inibição das duas enzimas em presença de ácido chiquímico. Os resultados mostram também que a presença do ácido gálico sempre reduziu o efeito observado em todas as misturas testadas. Não foram encontrados relatos quanto à atividade inibitória do ácido anacárdico, gálico e chiquímico para essas enzimas, entretanto os resultados observados com o ácido elágico corroboram aos observados em trabalhos anteriores, tanto no caso da avaliação do composto isolado, quanto na avaliação de extratos vegetais em que o ácido elágico faz parte da composição química (Kam *et. al.*, 2013; Jianbo Xiao *et. al.*, 2013; Ismail Shareef *et. al.*, 2014).

Na avaliação do efeito dos extratos sobre a atividade da  $\alpha$  amilase salivar humana e da  $\alpha$  glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae*, observou-se efeito inibitório do extrato das flores (EFL) para as duas enzimas testadas, mesmo nas menores concentrações. Tanto na comparação com os demais extratos como na comparação com os compostos isolados, como mostram as tabelas 1 e 2.

Os extratos das flores e da casca do cajueiro já foram objeto de estudo em varias pesquisas que avaliaram a sua atividade no controle da diabetes (Silva e Guerra 2009; Eliakim-Ikechukwu *et. al.*, 2010; Ramnik Singh, 2010), entretanto apenas o extrato da casca foi investigado quanto a sua atividade na inibição da atividade da  $\alpha$  amilase com resultados que corroboram aos observados no presente estudo (Ali *et. al.*, 2006),

Contudo o resultado que mais chamou atenção foi a o alto poder de inibição da  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase pelas flores do cajueiro, inclusive nas concentrações mais baixas (Tabelas 1 e 2). Todas as concentrações testadas do EFL apresentaram inibição da  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase semelhantes ao observado nos inibidores disponíveis no mercado. (Marshall e Lauda, 1975; Hamdan *et. al.*, 2004; Tucci *et. al.*, 2010; Sales *et. al.*, 2012; Sindhu *et. al.*, 2013; Marchesini *et. al.*, 2014).

Este efeito inibitório observado apenas nas flores quando comparado aos extratos da casca e folhas pode ter relação com a composição química destas diferentes partes de *A. occidentale*, pois em prospecção química realizada nestes três extratos observou que o EFL era o extrato que concentrava quantitativamente e qualitativamente mais metabólitos secundários bioativos, quando comparado as folhas e casca, principalmente no que refere-se a alcaloides e flavonoides (Da Silva, 2012). Desda forma podemos inferir que a composição química das flores possa ter influenciado positivamente nestes resultados.

**Tabela 1.** Efeito dos extratos hidroalcoólicos<sup>a</sup> das folhas, flores e da casca do caule, dos ácidos<sup>b</sup> anacárdico, chiquímico, gálico e elágico, bem como misturas desses ácidos<sup>c</sup>, sobre atividade da  $\alpha$ -amilase (U/L).

| CONCENTRAÇÕES      | 0,5 mg/mL                     | 5 mg/mL                         | 50 mg/mL                       | 500 mg/mL                       |
|--------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| <b>SUBSTÂNCIAS</b> |                               |                                 |                                |                                 |
| <b>Controle</b>    | 160 $\pm$ 18 <sup>d</sup>     | 160 $\pm$ 18                    | 160 $\pm$ 18                   | 160 $\pm$ 18                    |
| <b>EFL</b>         | <b>* 9 <math>\pm</math> 8</b> | <b>* 11 <math>\pm</math> 13</b> | <b>* 4 <math>\pm</math> 10</b> | 13 $\pm$ 24                     |
| <b>EF</b>          | 138 $\pm$ 4                   | 149 $\pm$ 9                     | 118 $\pm$ 28                   | 43 $\pm$ 22                     |
| <b>EC</b>          | 158 $\pm$ 36                  | 155 $\pm$ 29                    | 35 $\pm$ 28                    | <b>*15 <math>\pm</math> 13</b>  |
| <b>AA</b>          | 79 $\pm$ 22                   | 40 $\pm$ 19                     | <b>* 10 <math>\pm</math> 9</b> | <b>* 5 <math>\pm</math> 10</b>  |
| <b>AE</b>          | 113 $\pm$ 27                  | 30 $\pm$ 19                     | <b>* 9 <math>\pm</math> 17</b> | <b>* 11 <math>\pm</math> 21</b> |
| <b>AG</b>          | 105 $\pm$ 35                  | 50 $\pm$ 38                     | 10 $\pm$ 35                    | <b>*1 <math>\pm</math> 18</b>   |
| <b>AC</b>          | 83 $\pm$ 36                   | 86 $\pm$ 5                      | 89 $\pm$ 16                    | <b>*9 <math>\pm</math> 19</b>   |
| <b>AA+AC</b>       | 93 $\pm$ 8                    | 52 $\pm$ 18                     | 62 $\pm$ 8                     | <b>* 10 <math>\pm</math> 18</b> |
| <b>AA+AG</b>       | 145 $\pm$ 18                  | 62 $\pm$ 62                     | 62 $\pm$ 62                    | 41 $\pm$ 36                     |
| <b>AA+AE</b>       | 114 $\pm$ 18                  | 103 $\pm$ 30                    | 72 $\pm$ 27                    | 31 $\pm$ 24                     |
| <b>AC+AG</b>       | 103 $\pm$ 18                  | 72 $\pm$ 35                     | 83 $\pm$ 32                    | 52 $\pm$ 18                     |
| <b>AC+AE</b>       | 114 $\pm$ 25                  | 72 $\pm$ 27                     | 62 $\pm$ 0                     | 64 $\pm$ 34                     |
| <b>AG+AE</b>       | 114 $\pm$ 36                  | 103 $\pm$ 36                    | 52 $\pm$ 18                    | <b>*36 <math>\pm</math> 9</b>   |
| <b>AC+AG+AE</b>    | 143 $\pm$ 0                   | 103 $\pm$ 23                    | 96 $\pm$ 3                     | 65 $\pm$ 27                     |
| <b>AA+AE+AC</b>    | 32 $\pm$ 6                    | <b>* 15 <math>\pm</math> 12</b> | <b>* 10 <math>\pm</math> 5</b> | <b>* 1 <math>\pm</math> 1</b>   |
| <b>AA+AG+AC</b>    | 135 $\pm$ 28                  | 104 $\pm$ 35                    | 74 $\pm$ 28                    | 20 $\pm$ 12                     |
| <b>AA+AG+AE</b>    | 113 $\pm$ 35                  | 72 $\pm$ 18                     | 34 $\pm$ 8                     | 26 $\pm$ 9                      |
| <b>AA+AC+AG+AE</b> | 106 $\pm$ 11                  | 59 $\pm$ 25                     | <b>*23 <math>\pm</math> 15</b> | <b>*15 <math>\pm</math> 1</b>   |

**a) Siglas dos extratos:** Extrato bruto das folhas (EF), flores (EFL) e da casca do caule (EC),

**b) Siglas dos ácidos:** Ácidos anacárdico (AA), chiquímico (AC), gálico (AG) e elágico (AE),

**c) Siglas das Misturas:** em proporções iguais entre ácido anacárdico e chiquímico (AA+AC), ácido anacárdico e gálico (AA+AG), ácido anacárdico e elágico (AA+AE), ácido chiquímico e gálico (AC+AG), ácido chiquímico e elágico (AC+AE), ácido gálico e elágico (AG+AE), ácido chiquímico, gálico e elágico (AC+AG+AE), ácido anacárdico, elágico e chiquímico (AA+AE+AC), ácido anacárdico, gálico e chiquímico (AA+AG+AC), ácido anacárdico, gálico e elágico (AA+AG+AE) e ácidos anacárdico, chiquímico, gálico e elágico (AA+AC+AG+AE),

**d) Dados:** Os resultados se referem a média  $\pm$  desvio padrão de triplicata da atividade da  $\alpha$ -amilase (U/L).

(\*)  $p < 0,05$  na comparação com o controle, solução de PBS.

**Tabela 2.** Efeito dos extratos hidroalcoólicos<sup>a</sup> das folhas, flores e da casca do caule, dos ácidos<sup>b</sup> anacárdico, chiquímico, gálico e elágico, bem como misturas desses ácidos<sup>c</sup>, sobre atividade da  $\alpha$  glicosidase(U/L).

| CONCENTRAÇÕES/<br>SUBSTÂNCIAS | 0,5 mg/mL                     | 5 mg/mL                         | 50 mg/mL                       | 500 mg/mL                       |
|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| <b>Controle</b>               | 160 $\pm$ 2 <sup>d</sup>      | 160 $\pm$ 21                    | 160 $\pm$ 21                   | 160 $\pm$ 21                    |
| <b>EFL</b>                    | <b>* 9 <math>\pm</math> 8</b> | <b>* 10 <math>\pm</math> 12</b> | <b>* 4 <math>\pm</math> 9</b>  | <b>* 13 <math>\pm</math> 22</b> |
| <b>EF</b>                     | 131 $\pm$ 3                   | 142 $\pm$ 9                     | 112 $\pm$ 26                   | 41 $\pm$ 21                     |
| <b>EC</b>                     | 151 $\pm$ 34                  | 147 $\pm$ 28                    | 33 $\pm$ 26                    | <b>* 14 <math>\pm</math> 13</b> |
| <b>AA</b>                     | 75 $\pm$ 21                   | 38 $\pm$ 18                     | <b>* 9 <math>\pm</math> 9</b>  | <b>* 5 <math>\pm</math> 10</b>  |
| <b>AE</b>                     | 108 $\pm$ 25                  | 28 $\pm$ 19                     | <b>* 8 <math>\pm</math> 16</b> | <b>* 10 <math>\pm</math> 20</b> |
| <b>AG</b>                     | 100 $\pm$ 33                  | 48 $\pm$ 36                     | 9 $\pm$ 33                     | <b>* 1 <math>\pm</math> 17</b>  |
| <b>AC</b>                     | 79 $\pm$ 34                   | 82 $\pm$ 4                      | 85 $\pm$ 15                    | <b>* 9 <math>\pm</math> 18</b>  |
| <b>AA+AC</b>                  | 89 $\pm$ 0                    | 49 $\pm$ 17                     | 59 $\pm$ 0                     | <b>* 10 <math>\pm</math> 17</b> |
| <b>AA+AG</b>                  | 138 $\pm$ 17                  | 59 $\pm$ 29                     | 59 $\pm$ 29                    | 39 $\pm$ 34                     |
| <b>AA+AE</b>                  | 108 $\pm$ 17                  | 99 $\pm$ 35                     | 69 $\pm$ 25                    | 30 $\pm$ 31                     |
| <b>AC+AG</b>                  | 99 $\pm$ 17                   | 69 $\pm$ 32                     | 79 $\pm$ 28                    | 49 $\pm$ 17                     |
| <b>AC+AE</b>                  | 108 $\pm$ 30                  | 69 $\pm$ 25                     | 59 $\pm$ 0                     | 61 $\pm$ 33                     |
| <b>AG+AE</b>                  | 108 $\pm$ 34                  | 99 $\pm$ 34                     | 49 $\pm$ 17                    | 35 $\pm$ 9                      |
| <b>AC+AG+AE</b>               | 136 $\pm$ 0                   | 99 $\pm$ 39                     | 91 $\pm$ 3                     | 62 $\pm$ 26                     |
| <b>AA+AE+AC</b>               | 30 $\pm$ 6                    | <b>* 14 <math>\pm</math> 12</b> | <b>* 9 <math>\pm</math> 5</b>  | <b>* 1 <math>\pm</math> 1</b>   |
| <b>AA+AG+AC</b>               | 129 $\pm$ 26                  | 99 $\pm$ 34                     | 70 $\pm$ 25                    | 19 $\pm$ 11                     |
| <b>AA+AG+AE</b>               | 107 $\pm$ 34                  | 69 $\pm$ 17                     | 33 $\pm$ 7                     | 25 $\pm$ 9                      |
| <b>AA+AC+AG+AE</b>            | 101 $\pm$ 11                  | 56 $\pm$ 24                     | 22 $\pm$ 14                    | <b>* 14 <math>\pm</math> 1</b>  |

**a) Siglas dos extratos:** Extrato bruto das folhas (EF), flores (EFL) e da casca do caule (EC),

**b) Siglas dos ácidos:** Ácidos anacárdico (AA), chiquímico (AC), gálico (AG) e elágico (AE),

**c) Siglas das Misturas:** em proporções iguais entre ácido anacárdico e chiquímico (AA+AC), ácido anacárdico e gálico (AA+AG), ácido anacárdico e elágico (AA+AE), ácido chiquímico e gálico (AC+AG), ácido chiquímico e elágico (AC+AE), ácido gálico e elágico (AG+AE), ácido chiquímico, gálico e elágico (AC+AG+AE), ácido anacárdico, elágico e chiquímico (AA+AE+AC), ácido anacárdico, gálico e chiquímico (AA+AG+AC), ácido anacárdico, gálico e elágico (AA+AG+AE) e ácidos anacárdico, chiquímico, gálico e elágico (AA+AC+AG+AE),

**d) Dados:** Os resultados se referem a média  $\pm$  desvio padrão de triplicata da atividade da  $\alpha$ -glicosidase (U/L).

**(\*)**  $p < 0,05$  na comparação com o controle, solução de PBS.

Quando avaliamos o efeito das substancias isoladas sobre a atividade da enzimas  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase os ácidos anacárdico e elágico foram os que apresentaram maiores efeitos inibitórios. Embora os resultados da atividade do ácido elágico já tenham sido descritos anteriormente, tanto para o composto isolado, como na avaliação de extratos vegetais em que o ácido elágico está presente (Kam *et. al.*, 2013; Jianbo Xiao *et. al.*, 2013; Ismail Shareef *et. al.*, 2014), estes parecem ser os primeiros relatos quanto a atividade do ácido anacárdico sobre essas duas enzimas.

Os resultados obtidos com as soluções das misturas dos ácidos mostraram que somente a dupla contendo ácido anacárdico/ ácido elágico e o trio ácido anacárdico/ ácido elágico/ácido chiquímico apresentaram efeitos inibitórios semelhantes ao EFL. Curiosamente, embora os ácidos anacárdico e elágico tenham apresentado atividade inibitória quando isolados, quando ocorreu associação dos dois esse efeito foi reduzido, sendo inclusive menor do que o detectado nos compostos isolados. Por outro lado, a associação com o ácido chiquímico resultou na restauração da atividade compatível com a observada no extrato bruto (Tab. 1 e 2).

Ao que tudo indica o ácido chiquímico mostrou efeito sinérgico entre o ácido anacárdico e elágico, pois a sua mistura com os dois ácidos além de ter potencializado o efeito inibitório para as duas enzimas testadas, também apresentou um razoável efeito inibitório da  $\alpha$  glicosidase quando misturado apenas com o ácido anacárdico (Tab. 2). O efeito sinérgico entre diferente compostos, como é o caso do ácido chiquímico e dos ácidos anacárdico e elágico não é raro na natureza, e ocorrem com maior frequência do que a atividade de compostos isolados (Becerra-Moreno *et. al.*, 2012; Singh *et. al.*, 2014). Apesar da ação observada, ainda não temos subsídios para elucidar os principais mecanismos e reações envolvidas na atividade observada.

Merece destaque nos resultados obtidos a similaridade dos efeitos do EFL e dos compostos isolados e misturas na inibição das duas enzimas com resultados, inclusive, numericamente semelhantes. Justificam esses achados os resultados similares descritos anteriormente com a acarbose, inibidores utilizados no controle da diabetes obtidos a partir de fungos. Além da acarbose, os extratos de *Marrubium*

*radiatum* e *Salvia acetabulosa*, *Sclerocarya birrea*, apresentaram efeitos numericamente similares na inibição de  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidade. (Tudis *et. al.*, 2010; Mogale *et. al.*, 2013).

Os resultados em conjunto indicam um potente efeito inibitório do extrato hidroalcoolico das flores do cajueiro e dos compostos majoritários identificados nesse extrato, sobre a atividade das enzimas  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase, sendo este efeito semelhante ao observado na mistura entre os ácidos anacárdico, elágico e chiquímico. Como estes ácidos fazem parte da composição química desta espécie vegetal (Chaves *et. al.* 2010, Tedong *et. al.* 2010, Orhan *et. al.* 2012, Punithavathi 2011, Malini *et. al.* 2011), podemos inferir que o efeito observado nas flores está relacionado a combinação desses compostos e talvez de outros que são encontrados em menor concentração, não investigados nesse estudo.

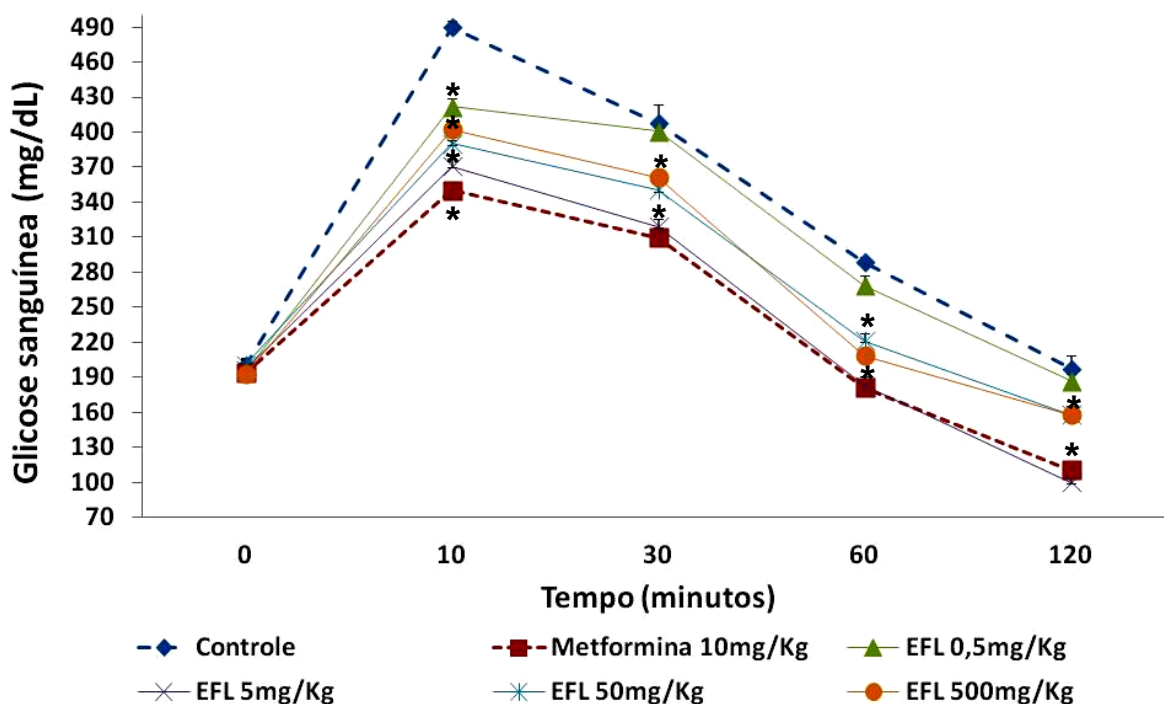
Na perspectiva de aplicação destas descobertas na melhoria da qualidade de vida de pacientes diabéticos, podemos colocar o extrato hidroalcoolico das flores e a mistura dos ácidos anacárdico, elágico e chiquímico, como promissores para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas aos inibidores de amilase presentes no mercado tais como acarbose e a faseolamina por apresentarem percentuais de inibição semelhantes a estas substancias (Marshall e Lauda, 1975; Hamdan *et. al.*, 2004; Tucci *et. al.*, 2010; Sales *et. al.*, 2012; Sindhu *et. al.*, 2013; Marchesini *et. al.*, 2014).

A inibição da  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, enzimas envolvidas na digestão de carboidratos, podem reduzir significativamente o aumento pós-prandial de glicose no sangue e, portanto, podem ser uma estratégia importante no controle da glicose no sangue em diabéticos tipo 2. Essa inibição é uma abordagem terapêutica para o tratamento na fase precoce da diabetes para diminuir a hiperglicemia pós-prandial. (Oliveira *et. al.*, 2003; Oliveira e Milech, 2004; Tundis *et. al.* 2010).

### 3.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-DIABETES DE *A.occidentale* *in vivo*

Como o diabetes é caracterizado fundamentalmente por alterações na concentração sanguínea de glicose, o que afeta o funcionamento de vários órgãos (WHO 2008). A inibição das enzimas  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase tem efeito direto no controle da diabetes principalmente logo após o consumo de glicose, com base nessas informações investigamos o efeito de diferentes doses do extrato hidroalcoólico das flores de *A. occidentale* (EFL) na tolerância oral a glicose em camundongos Swiss com diabetes induzida por estreptozotocina e frutose, tendo em vista que as alterações na tolerância à glicose aumentam o risco de doença cardiovascular e das complicações associadas a diabetes (Roman e Hancu, 2009). A avaliação da tolerância à glicose auxilia a detecção precoce da sensibilidade à insulina (Wopereis *et. al.*, 2009).

Os resultados mostram uma rápida ação do tratamento na redução da glicemia quando utilizamos doses acima de 5mg/Kg. O efeito foi mais marcante 10 minutos após o tratamento com o extrato. Ao longo do tempo de avaliação esta redução foi modulada, de forma a proporcionar uma suave queda na concentração sanguínea de glicose, sem causar hipoglicemia, nos intervalos subsequentes (Figura 1).



**Figura 1:** Efeito do tratamento com extrato hidroalcoólico de flores de *A. occidentale* (EFL) sobre a tolerância oral a glicose. Camundongos Swiss com diabetes induzida por frutose e streptozotocina receberam solução de glicose (30 mg/Kg), via oral, e receberam 5 minutos depois tratamento com 0,5, 5, 50 e 500 mg/Kg do extrato e metformina 10 mg/Kg. A concentração de glicose sanguínea foi avaliada antes da administração da glicose e 10, 30, 60 e 120 minutos depois do tratamento com EFL. Os dados correspondem a média de 5 animais/grupo. (\*)  $p < 0,05$  na comparação com o controle.

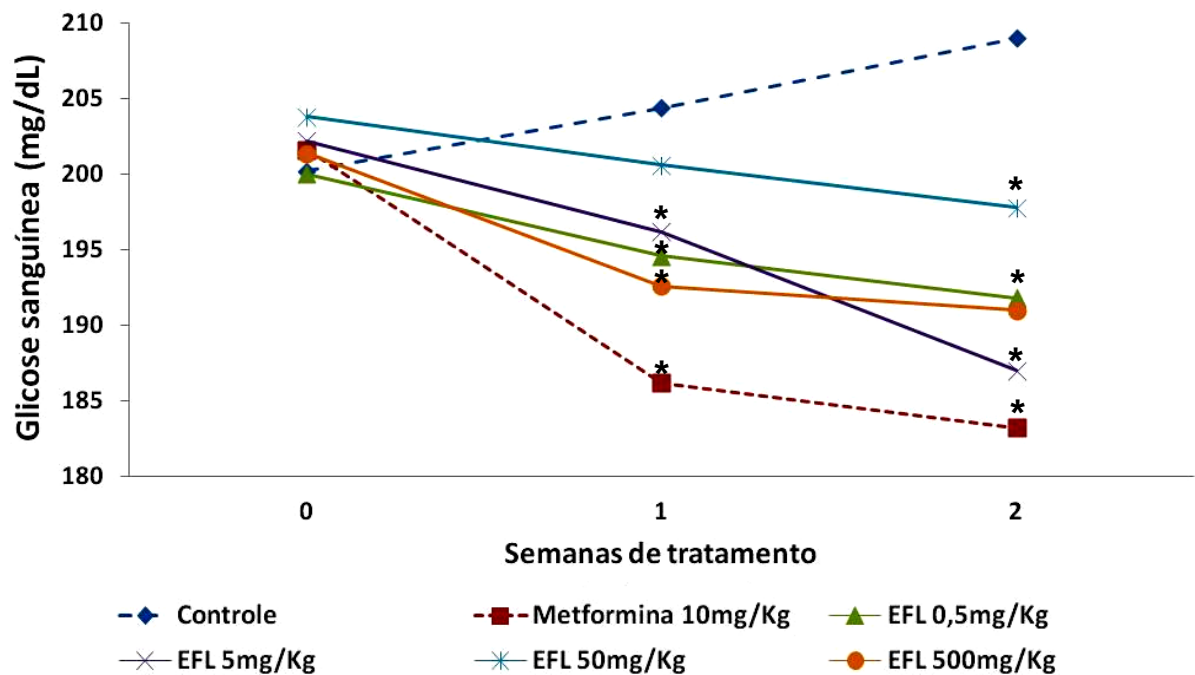
O EFL apresentou acentuado efeito anti-hiperglicemiante semelhante aos observados em outros extratos vegetais e medicamentos utilizados para esta finalidade entre eles os inibidores da  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase (Fuentes *et al.*, 2004; Giuseppina, 2005; Samad *et al.*, 2009; Tundis *et al.* 2010). Outro fato que chama a atenção no efeito desta dose é o seu curto tempo para ocorrer o efeito, sugerindo que no extrato existem compostos com essa ação anti-hiperglicemiante. Importante destacar que a dose efetiva foi relativamente baixa se levarmos em consideração os medicamentos comumente utilizados para esta finalidade (Raskin *et al.* 2009).

Além disso, este efeito de evitar picos glicêmicos após consumo de glicose é característico de inibidores das  $\alpha$ -glicosidase, o que nos leva supor que a ação observada *in vitro* de inibição desta enzima pelo EFL (Tab. 2), é estendida para animais, sendo esta ação preservada mesmo após metabolização do EFL pelo camundongo Swiss, o que coloca o EFL como promissor para o desenvolvimento de um inibidor capaz de ser utilizado no controle da diabetes em humanos.

Vários autores também têm avaliado cronicamente e descrito a redução dos níveis glicêmicos decorrente do tratamento com extratos obtidos das folhas e do caule de *A. occidentale* no diabetes (Kamtchouing *et al.*, 1998; Ojewole, 2003; Alexander-Lindo *et al.*, 2004; Tedong *et al.*, 2006), inclusive com o desenvolvimento e proteção de produtos com essa finalidade (Gbodossou e Vidjin, 2002; Ratsimamanga, 1981; Corrie, 1972). Os resultados aqui obtidos com as doses acima de 5mg/Kg (Fig. 2) corroboram, portanto, com esses trabalhos quanto a sua ação no controle e redução da glicose sanguínea. Sendo o extrato avaliado, obtido da mesma espécie vegetal, é razoável supor que nas partes áreas de *A. occidentale* há composto(s) com ação no controle da diabetes.

Como a dose de efeito aqui descrita foi relativamente baixa, em comparação com o descrito para os extratos do caule e folha (Kamtchouing *et al.*, 1998; Ojewole, 2003; Alexander-Lindo *et al.*, 2004; Tedong *et al.*, 2006), podemos inferir que há nas flores uma maior concentração desse(s) composto(s), fato que pode ser reforçado pelo extrato das flores concentrar mais metabólitos secundários bioativos, quando comparado as folhas e casca (Da Silva, 2012).

Essa redução dos níveis glicêmicos entre 10 e 30 mg/dL observado no tratamento crônico são mais comuns novamente a classe de medicamentos que inibem a ação da  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase, tal como a acarbose, entretanto esta variação também pode ser observado naqueles incrementam a secreção pancreática de insulina, tal como as glinidas, ou ainda naqueles que apresentam efeito incretínico mediado pelos hormônios GLP-1 e GIP, considerados peptídeos insulínotropicos dependentes de glicose (SBD 2014; Kahn *et. al.*, 2014), o que nos leva supor que o EFL além de ser inibidor enzimático também possa agir em outros mecanismos fisiopatológicos da diabetes.

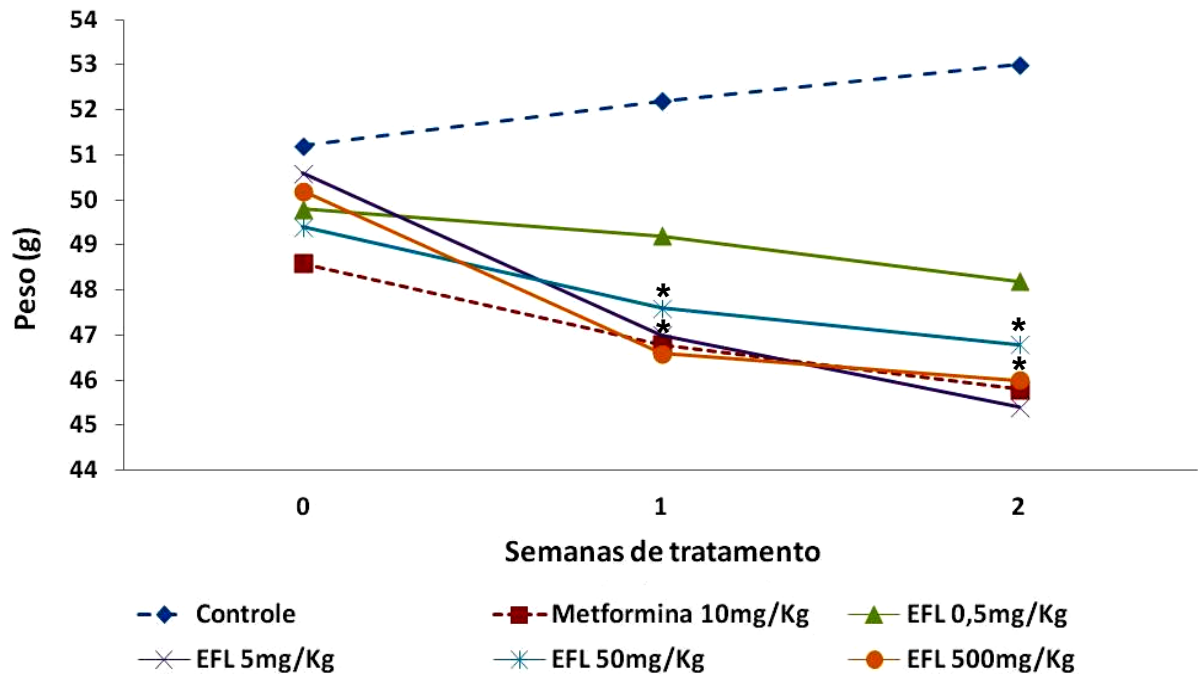


**Figura 2:** Efeito do tratamento com extrato hidroalcoólico de flores de *A. occidentale* (EFL) sobre a variação glicêmica. Camundongos Swiss com diabetes induzida por frutose e streptozotocina tratados diariamente como 0,5, 5, 50 e 500 mg/Kg do extrato e metformina 10 mg/Kg. A glicemia sanguínea foi avaliada antes do tratamento e ao final da 1ª e 2ª semana de tratamento. Os dados correspondem a média de 5 animais/grupo. (\*)  $p < 0,05$  na comparação com o controle.

Ocorreu importante redução de peso, ao final da segunda semana, em todos os grupos tratados com EFL, em contraposição ao grupo controle, que no mesmo intervalo, aumentou o peso corporal, característica comum nos quadros iniciais do diabetes (SBD 2014; Kahn *et. al.*, 2014). Os resultados sugerem que o extrato interfere na absorção de carboidratos, possivelmente devido ao mesmo mecanismo que resulta na inibição das enzimas  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase. Considerando que alterações na glicemia interferem também no peso corporal (WHO, 2008).

A obesidade, especialmente a visceral, é um dos fatores de risco preponderante para o desenvolvimento da diabetes, devido ao aumento dos ácidos graxos livres e circulantes, diminuição da adiponectina e secreção de citocinas pelo tecido adiposo. O acúmulo de gordura nos tecidos como fígado, músculo e pâncreas, reduz a capacidade do fígado e músculos em metabolizar a glicose e no pâncreas contribui para a disfunção das células beta e sua destruição por apoptose pelo estresse oxidativo, quadro denominado lipotoxicidade (Lin e Sun, 2010; Olokoba *et. al.*, 2012; Kahn *et. al.*, 2014). Mas com a progressão e agravamento desta patologia é comum ocorrer redução do peso corpóreo (Berry, 2009). Desta forma buscamos avaliar o efeito dos extratos de *A. occidentale* no peso dos animais (Fig. 3)

A redução ponderal observada no tratamento, por sua vez, é também efeito comum aos medicamentos que diminuem a produção hepática de glicose como as biguanidas, tal como a metformina e aos medicamentos que apresentam efeito incretina mediado pelos hormônios GLP-1 e GIP, considerados peptídeos insulínotropicos dependentes de glicose (Oliveira *et. al.*, 2003; Oliveira e Milech, 2004, Olokoba *et. al.*, 2012; SBD, 2014; Kahn *et. al.*, 2014), o que reforça a hipótese que o EFL além de ser inibidor enzimático também parece ter ação em outros mecanismos fisiopatológicos da diabetes.

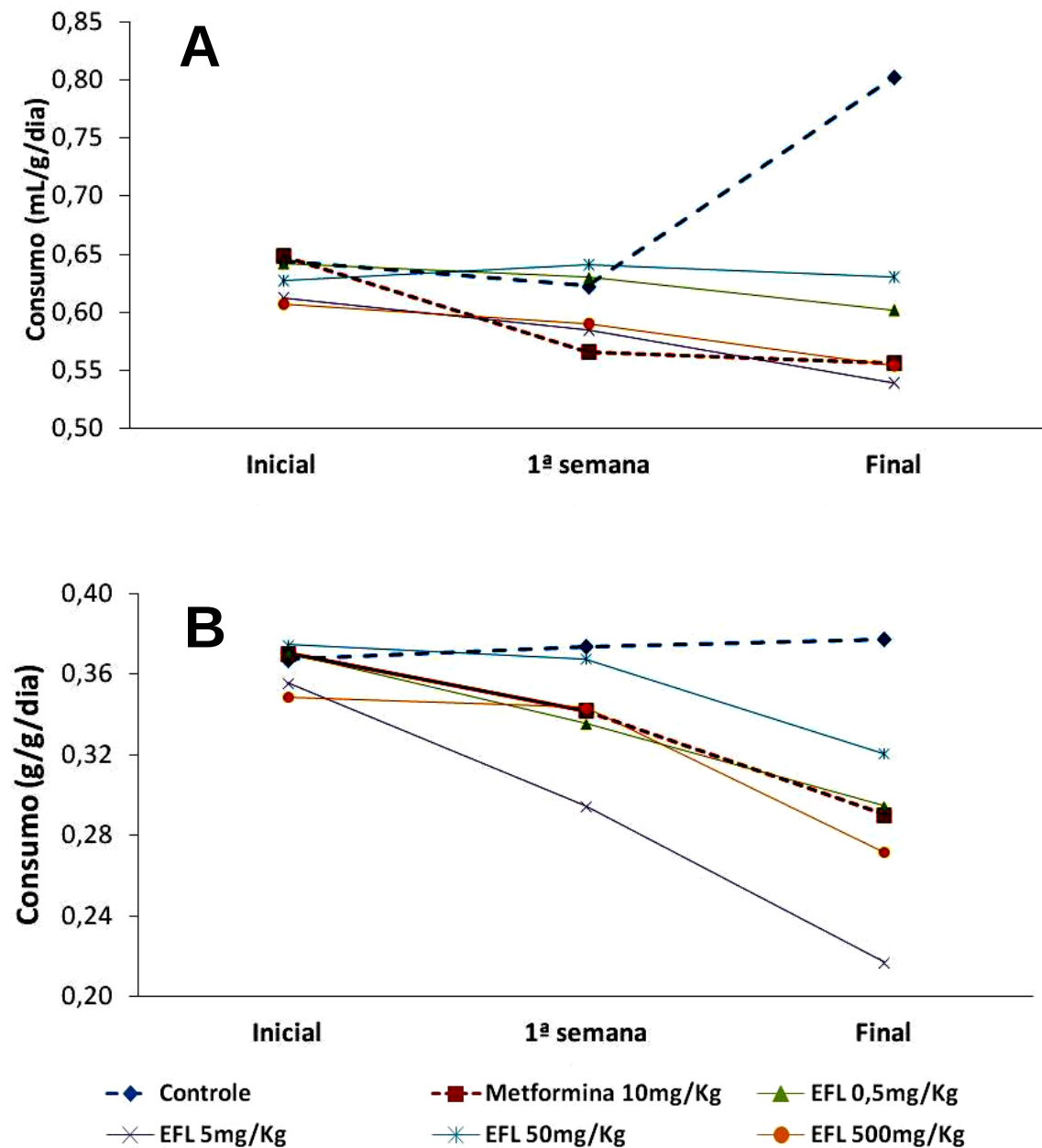


**Figura 3:** Efeito do tratamento com extrato hidroalcoólico de flores de *A. occidentale* (EFL) sobre a variação ponderal. Camundongos Swiss com diabetes induzida por frutose e streptozotocina tratados diariamente como 0,5, 5, 50 e 500 mg/Kg do extrato e metformina 10 mg/Kg. O peso foi aferido antes do tratamento e ao final da 1ª e 2ª semana. Os dados correspondem a média de 5 animais/grupo. (\*)  $p < 0,05$  na comparação com o controle.

Os resultados obtidos mostram que o tratamento com as doses acima de 5 mg/Kg foi efetivo em reduzir tanto o consumo de água como o de ração (Figura 4). Possivelmente, a redução no consumo foi resultado na melhoria do controle glicêmico obtido após tratamento com EFL, como mostram as Figuras 1 e 2.

A elevação da glicemia diminui o limiar de reabsorção glicose nos rins ocasionando a polidipsia compensatória, assim como a diminuição da utilização de glicose pelos tecidos ocorre a polifagia (Lin e Sun, 2010; Olokoba *et. al.*, 2012; Kahn *et. al.*, 2014). Os resultados em conjunto indicam que a redução da glicemia ocasionada pelo EFL pode ter relação direta com a redução no consumo e água e ração dos animais. Por outro lado a redução no consumo de ração pode ter interferido na redução do peso corpóreo dos animais (Figura 3) por diminuição na ingesta calórica e melhora no metabolismo de carboidratos.

Os dados indicam que o EFL parece ter efeito na polifagia e a polidipsia, sinais comuns tanto do desenvolvimento, como do agravamento do quadro clínico no diabetes (Briede *et. al.*, 2008, WHO, 2006). Em geral, essas alterações são decorrentes da elevação da glicemia, que ultrapassa o limiar da quantidade de glicose que os rins são capazes de reabsorver. A glicose é perdida na urina e, por osmolaridade, perde-se água, o que ocasiona a poliúria e a polidipsia compensatória. Assim, medicamentos com ação sobre esses sinais são também efetivos em controlar a diabetes. (Olokoba *et. al.*, 2012; SBD, 2014; Kahn *et. al.*, 2014).



**Figura 4:** Consumo diário de água (A) e ração (B) em animais tratados com o extrato hidroalcoólico das flores de *A. occidentale* (EFL). Camundongos Swiss com diabetes induzida por frutose e streptozotocina, foram tratados com EFL nas doses de 0,5, 5, 50 e 500 mg/Kg do extrato e metformina 10 mg/Kg. Os dados correspondem à média + desvio padrão de 5 animais/grupo avaliados, durante as duas semanas de tratamento,  $p < 0,05$  na comparação com o controle.

O tratamento com EFL acima da dose de 5mg/Kg reduziu o percentual de hemoglobina glicada e de frutossaminas, demonstrando que o extrato exerceu efeito contínuo na redução dos níveis de sanguíneos de glicose (Tabela 3).

A hemoglobina glicada tem sido considerada representativa da média ponderada global das glicemias médias diárias, incluindo glicemias de jejum e pós-prandial, considerada um sensível indicador do histórico glicêmico dos pacientes, além de ser uma ferramenta de prognóstico para as complicações crônicas (WHO, 2006; Motta *et. al.* 2009). Desta forma podemos inferir que o EFL é efetivo não apenas na redução da glicemia atual, mas também no seu controle de longo prazo, mantendo-a em níveis baixos ao longo do dia e durante o tratamento.

Outro método muito utilizado para avaliar o histórico glicêmico é a dosagem das frutossaminas, serve para quantificar a glicação das proteínas séricas, das quais a principal é a albumina. Como a albumina tem *turnover* de duas semanas, a frutossamina reflete o controle glicêmico ao longo deste período, sendo uma alternativa útil como resultado complementar a dosagem de hemoglobina glicada, sobretudo nos casos dos pacientes com anemia (Lin e Sun, 2010; Olokoba *et. al.*, 2012; Kahn *et. al.*, 2014; SBD 2014).

O tratamento com as doses do extrato acima de 5mg/Kg reduziu a concentração dos triglicérides, colesterol total e da fração LDL e aumentou a concentração circulante da fração HDL, mostrando que o extrato acima da dose de 5mg/Kg foi efetivo em controlar a dislipidemia no diabetes (Tabela 3).

As alterações glicêmicas da diabetes tem entre suas principais complicações as doenças cardiovasculares, as quais têm sua gênese na dislipidemia provocada pela alteração no perfil lipídico do diabético. As alterações mais comuns no diabetes incluem aumento dos triglicérides e da fração LDL do colesterol, além de diminuição da fração HDL do colesterol. A elevação dos triglicérides não somente é implicada na apoptose das células beta pancreáticas (lipotoxicidade), como também contribui para a determinação do grau de acúmulo de LDL oxidadas (Lin e Sun, 2010; Olokoba *et. al.*, 2012; Kahn *et. al.*, 2014; SBD 2014).

Em geral, o aumento da glicose interfere na mobilização e no metabolismo de gordura, por isso no diabetes geralmente ocorre aumento na concentração de colesterol e suas frações, bem como nos triglicérides. Desta forma, as opções de tratamento devem prevenir ou reduzir os níveis sanguíneos desses parâmetros (Mooradian, 2009; Tovar *et. al.*, 2008). Mais uma vez, os resultados obtidos reforçam a eficácia das doses acima de 5mg/Kg do extrato no controle da diabetes.

O efeito observado no EFL também é comum a outros medicamentos utilizados no controle da diabetes entre eles as glitazonas, que aumentam a utilização periférica de glicose ou as biguanidas que reduzem a produção hepática de glicose. É também efeito comum aos medicamentos inibidores das  $\alpha$ -glicosidases os quais reduzem a velocidade de absorção de glicídios (Oliveira *et. al.*, 2003; Oliveira e Milech, 2004, Olokoba *et. al.*, 2012; SBD, 2014; Kahn *et. al.*, 2014). Em conjunto os resultados indicam que o EFL tem efeitos tanto no controle glicêmico, como na variação ponderal, consumo de água e alimentos e na bioquímica sanguínea, conjungando os efeitos de várias drogas em um só extrato.

**Tabela 3** - Análise bioquímica de camundongos tratados com extrato hidroalcoólico das flores de *A. occidentale* (EFL) em comparação a metformina.

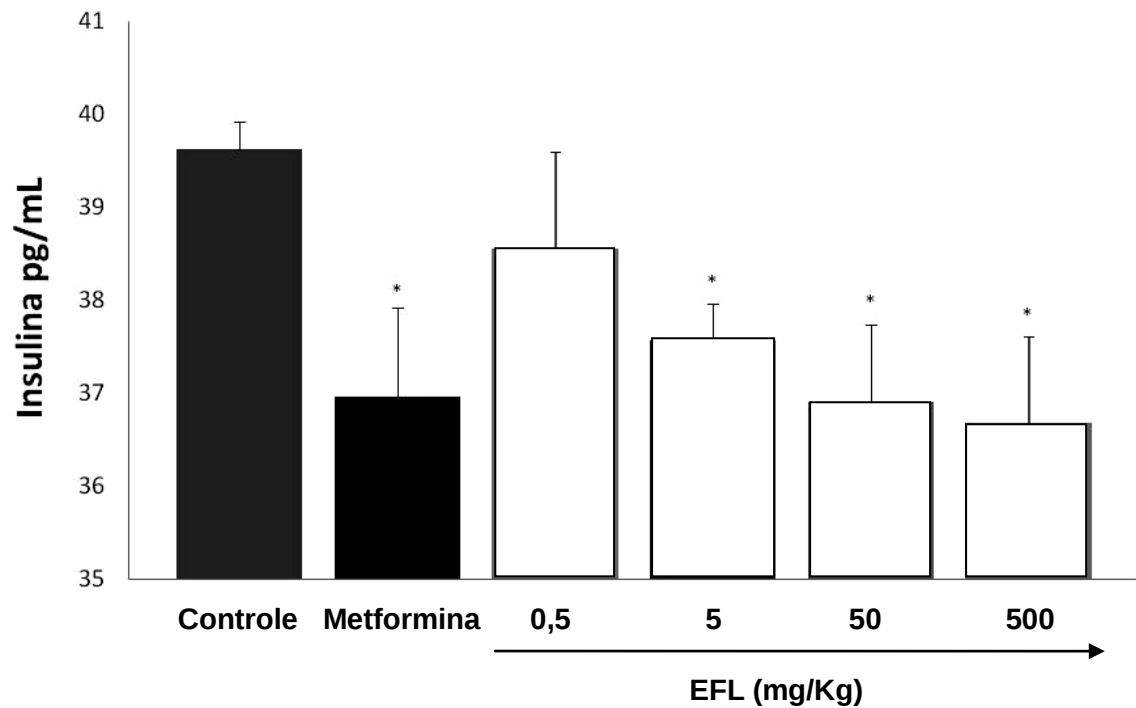
| ANÁLISES BIOQUÍMICAS     | GRUPOS     |                    |              |                    |                    |                    |
|--------------------------|------------|--------------------|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                          | Controle   | Metformina 10mg/Kg | EFL 0,5mg/Kg | EFL 5mg/Kg         | EFL 50mg/Kg        | EFL 500mg/Kg       |
| Hemoglobina Glicada (%)  | 9,6±1,8    | <b>*7,0±0,6</b>    | 8,4±1,2      | <b>*6,3±0,6</b>    | <b>*7,1±0,8</b>    | <b>*7,0±0,7</b>    |
| Frutosamina (µmol/L)     | 328,7±10,4 | <b>*270,2±12,0</b> | 323,9±8,3    | <b>*284,9±16,0</b> | <b>*296,8±9,9</b>  | <b>*302,2±14,7</b> |
| Triglicérides (mg/dL)    | 682,2±65,3 | <b>*430,6±54,4</b> | 594,2±42,3   | <b>*499,8±35,2</b> | <b>*490,8±52,5</b> | <b>*546,5±20,5</b> |
| Colesterol Total (mg/dL) | 232,1±4,6  | <b>*214,1±11,6</b> | 230,0±12,0   | <b>*209,9±11,2</b> | <b>*215,9±11,1</b> | <b>*213,8±15,1</b> |
| LDL (mg/dL)              | 205,6±4,6  | <b>*187,7±11,6</b> | 203,5±12,0   | <b>*183,4±11,2</b> | <b>*189,4±11,1</b> | <b>*187,3±15,1</b> |
| HDL (mg/dL)              | 40,8±6,5   | <b>*56,2±5,4</b>   | 46,2±6,7     | <b>*61,7±5,4</b>   | <b>*55,2±7,3</b>   | <b>*54,2±9,2</b>   |

(a) Os dados correspondem à média + desvio padrão de 5 animais/grupo avaliados ao final da 2ª semana tratamento.

(\*) p< 0,05 na comparação com o controle.

A diabetes tipo 2 caracteriza-se por dois defeitos fisiopatológicos principais: resistência a insulina, que resulta no aumento da produção hepática de glicose e redução da sua utilização periférica e posteriormente com o agravamento da doença o comprometimento da função secretora das células beta pancreáticas (Lin e Sun, 2010; Olokoba *et. al.*, 2012; Kahn *et. al.*, 2014). Na busca de elucidarmos o possível mecanismo de ação do extrato avaliamos a concentração sérica de insulina e de citocinas nos animais submetidos ao tratamento com EFL.

Em todos os grupos tratados com o extrato ocorreu redução na concentração de insulina (Figura 5). Considerando que a insulina é o hormônio responsável pelo transporte da glicose do meio extracelular para o intracelular e está associada a redução da concentração de glicose (Urakami *et. al.*, 2007) é razoável propor que a redução de glicose observada nas Figuras 1 e 2. Vários mecanismos podem explicar a redução detectada. Tanto pode ter ocorrido redução na produção hepática de glicose, efeito é semelhante ao descrito para os medicamentos a base de biguanidas, como pode ter ocorrido aumento da utilização periférica de glicose como observado nas glitazonas, ou ainda por redução na velocidade de absorção de glicídios, como observado nos inibidores das  $\alpha$ -glicosidases, sendo este último comprovado pelos testes *in vitro* (Tabelas 1 e 2).



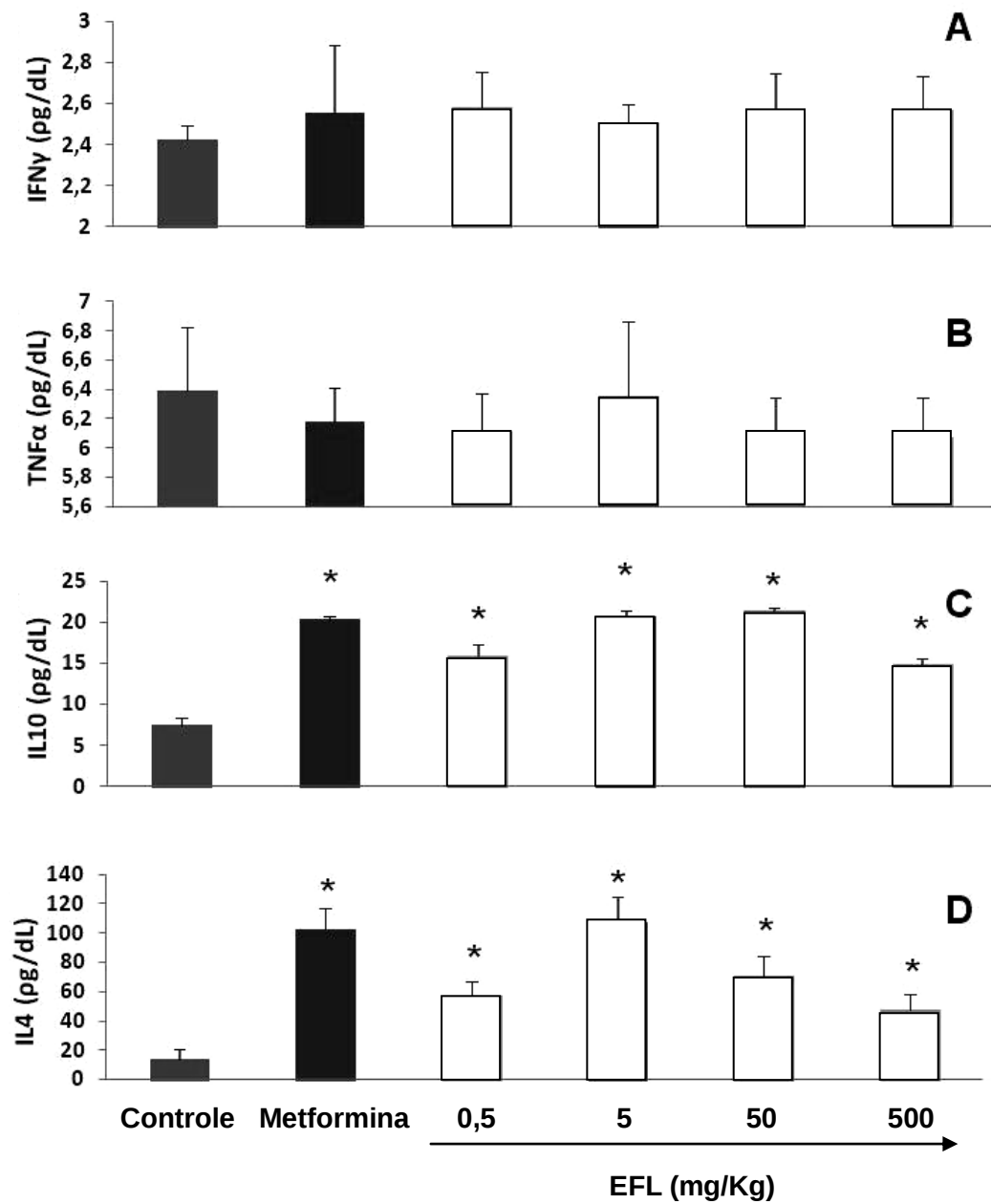
**Figura 5:** Efeito do tratamento com extrato hidroalcoólico de flores de *A. occidentale* (EFL) sobre a concentração sérica de insulina. Camundongos Swiss com diabetes induzida por frutose e streptozotocina tratados diariamente como 0,5, 5, 50 e 500 mg/Kg do extrato e metformina 10 mg/Kg. A concentração sérica de insulina foi determinada ao final do tratamento na segunda semana. Os dados correspondem a média de 5 animais/grupo. (\*)  $p < 0,05$  na comparação com o controle.

A diabetes em camundongos em geral leva a uma resposta inflamatória que é intensificada pela produção de citocinas inflamatórias como IL-6, INF- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Há, portanto, correlação positiva entre a produção de citocinas e o desenvolvimento da diabetes em camundongos. Assim, a insulite destrutiva das células  $\beta$  está associada ao aumento de TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ , enquanto a insulite não destrutiva ou benigna está associada com ao aumento da expressão de IL4 (AR, 1998).

Como o extrato não induziu alterações na concentração sérica nem de INF- $\gamma$  (Fig. 6A) nem de TNF- $\alpha$  (Fig. 6B), inferimos que o tratamento reduziu o processo inflamatório decorrente da diabetes. Contribui com essa suposição o fato do mesmo tratamento ocasionou significativos aumentos tanto na produção de IL-10 (Fig. 6C) como de IL-4 (Fig. 6D). Essas citocinas podem regular e reduzir o processo inflamatório no pâncreas, ocasionando apenas uma insulite não destrutiva das células  $\beta$ .

Estes resultados corroboram aos observados em outros estudos, onde o aumento da expressão de IL10 e IL4 foi considerado como fator protetor no desenvolvimento da diabetes autoimune, desempenhando importante papel imunomodulador, reduzindo a insulite, a destruição das células  $\beta$  pancreáticas, os efeitos sobre a produção de insulina e os efeitos patológicos da diabetes, conseqüentemente retardando o surgimento dos sinais da diabetes. (Calcinaro *et. al.* 1997; Lee *et. al.*, 2003; Balasa e Sarvetnick, 1998; Rehman *et. al.*, 2008; Goudy *et. al.*, 2003)

Com base nos dados obtidos podemos inferir que o mecanismo de ação do extrato hidroacoolico das flores *A.occidentale*, incluem efeitos observados nas várias drogas disponíveis no mercado, no que se refere a controle glicêmico, controle lipídico, redução ponderal e ainda adicionalmente resulta no controle do processo inflamatório em decorrência do aumento na concentração sérica de IL10 e IL4, o que tem efeitos diretos na modulação da concentração sérica de insulina e no controle do diabetes.



**Figura 6:** Efeito do tratamento com extrato hidroalcoólico de flores de *A. occidentale* (EFL) sobre a concentração de séricas de IFN- $\gamma$  (A); TNF- $\alpha$  (B); IL-10 (C) e IL-4 (D). Camundongos Swiss com diabetes induzida por frutose e streptozotocina tratados diariamente como 0,5, 5, 50 e 500 mg/Kg do extrato e metformina 10 mg/Kg. A concentração sérica de citocinas foi determinada ao final do tratamento na segunda semana. Os dados correspondem a média de 5 animais/grupo. (\*)  $p < 0,05$  na comparação com o controle.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados em conjunto mostram efeito anti-diabetes do extrato hidroalcoolico das flores, por ação inibitória das enzimas  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase, bem como devido ao controle glicêmico e aumento das citocinas Th2.

Os efeitos observados são decorrentes de fitocomplexo presente no EFL, uma vez que compostos isolados não possuíram a mesma efetividade que o extrato. Sendo assim, consideramos que EFL apresenta potencial biotecnológico promissor para o desenvolvimento de novas opções terapêuticas para o controle da diabetes.

#### REFERENCIAS

Ademiluyi, A.O., Oboh, G., 2013. Aqueous Extracts of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) Varieties Inhibit alpha-Amylase and alpha-Glucosidase Activities In Vitro. Journal Of Medicinal Food 16, 88-93

Akinpelu, D.A., 2001. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. Fitoterapia. 72(3): 286-287.

Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P.Z., 1999. For the World Health Organization Consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO.

Albuquerque J., 1989. Plantas Medicinais de uso popular. Brasília.

Alexander-Lindo, R.L., Morrison, E.Y., Nair, M.G., 2004. Hypoglycaemic effect of stigmast-4-en-3-one and its corresponding alcohol from the bark of *Anacardium occidentale* (cashew). *Phytother Res.*, 18(5):403-407.

Ali, H., Houghton P.J., Soumyanath, A., 2006. [alpha]-Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *Journal of Ethnopharmacology* 107, 449-456.

ADA - American Diabetes Association, 2013. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 36 (suppl. 1):S67-74.

Apostolidis, E., Lee, C.M., 2010. In vitro potential of *Ascophyllum nodosum* Phenolic Antioxidant-Mediated alfa-Glucosidase and alfa-Amylase Inhibition. *Journal of Food Science*. Vol. 75, Nr. 3.

Araújo C., 2005. Atividade antifúngica in vitro da casca do *Anacardium occidentale* L. sobre o gênero *Candida*. *Arq Odontol*. 41: 263.

Balasa B., Sarvetnick N., 1998. Cytokines and IDDM: implications for etiology and therapy. *Drug News Perspect*. 11(6):356-360.

Barko, R., Corbett, C.F., Allen, C.B., Shultz, J.A., 2011. Perceptions of Diabetes Symptoms and Self-Management Strategies: A Cross-Cultural Comparison. *Journal Of Transcultural Nursing* 22, 274-281.

Becerra-Moreno, A., Benavides, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. A., 2012. Plants as biofactories: Glyphosate-induced production of shikimic acid and phenolic antioxidants in wounded carrot tissue. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(45), 11378-11386.

Berry, D., 2009. Review: weight-reducing agents improve glycaemic control and reduce progression ta diabetes. *Evid Based Nurs*. 12(2): 45.

Bhandari, M.R., Nilubon, J.A., Gao H., Kawabata J., 2008.  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata* Haw.). Food Chemistry, 106, pp. 247–252.

Bhat M, Kothiwale S.K., Tirmale A.R., Bhargava S.Y., Joshi B.N. Antidiabetic Properties of *Azardirecta indica* and *Bougainvillea spectabilis*: *In Vivo* Studies in Murine Diabetes Model. Evid Based Complement Alternat Med. 2009, doi:10.1093/ecam/nep033.

Biswas, G., Acharya K., 2013. Hypoglycemic activity of ethanolic extract of *Astraeus hygrometricus* (Pers.) Morg. in alloxan-induced diabetic mice. Int J Pharm Pharm Sci, 5, 391-94.

Bochkov, D.V., Sysolyatin, S.V., Kalashnikov, A.I., Surmacheva, I.A., 2012. Shikimic acid: Review of its analytical, isolation, and purification techniques from plant and microbial sources. Journal of Chemical Biology, Vol.5(1), pp.5-17.

Briede, J., Stivrina, M., Stoldere, D., Vigante, B., Duburs, G. 2008. Effect of cerebrocrast on body and organ weights, food and water intake, and urine output of normal rats. Cell biochemistry and function, 26(8), 908-915.

Calcinaro, F., Gambelunghe, G., Lafferty, K.J., 1997. Protection from autoimmune diabetes by adjuvant therapy in the non-obese diabetic mouse: the role of interleukin-4 and interleukin-10. Immunol Cell Biol. 75(5):467-471.

Carrera Boada, C.A., Martínez-Moreno, J.M., 2013. Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: beyond the duo "insulin resistance-secretion deficit". Nutrición hospitalaria 28, 78-87.

Chaves, M.H., Citó, A.M.G.L., Costa, J.A.D., Oliveira, D.A., Costa, C.A.A., Brito Júnior A.F., Eleodoro F.M., 2010. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, 20(1), 106-112.

Chevallier, A., 1996. The Encyclopedia of Medicinal Plants. DK Publishing. 336 pages.

Coffman, M.J., Norton, C.K., Beene, L., 2012. Diabetes symptoms, health literacy, and health care use in adult Latinos with diabetes risk factors. *J Cult Divers* 19, 4-9.

Comelli, F., Bettoni, I., Colleoni, M., Giagnoni, G., Costa, B., 2009. Beneficial effects of a *Cannabis sativa* extract treatment on diabetes-induced neuropathy and oxidative stress. *Phytother Res.* 23(12): 1678-1684.

Corrie, M, 1972. inventor Therapeutic Compositions. England patent 1281526.

Cruz, G., 1985. Dicionário de Plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Ed. Civilização Brasileira.

Da Silva, R.A., 2012. Ação antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L.: Potencial biotecnológico na geração de produtos anticárie (Doctoral dissertation, Fundação Universidade Estadual do Ceará).

Dabhi, A.S., Bhatt, N.R., Shah, M.J., 2013. Voglibose: an alpha glucosidase inhibitor. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*,7(12), 3023.

Daglia, M., Lorenzo, A.D., Nabavi, S.F., Talas, Z.S., Nabavi, S.M., 2014. Polyphenols: Well Beyond The Antioxidant Capacity: Gallic Acid and Related Compounds as Neuroprotective Agents: You are What You Eat! *Current Pharmaceutical Biotechnology*, Vol.15(4), p.362-372.

Dai, S., Todd, M.E., Lee, S., McNeill J.H., 1994. Fructose-loading induces cardiovascular and metabolic changes in nondiabetic and diabetic rats. *Can J Physiol Pharmacol*, 72, 771–781.

DeFronzo, R.A., Eldor R., Abdul-Ghani M., 2013. Pathophysiologic approach to therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care* 36, 127-138.

Dias, J.C.R., Campos, J.A.D.B., 2012. Diabetes mellitus: razão de prevalências nas diferentes regiões geográficas no Brasil, 2002–2007. Diabetes mellitus: reasons for prevalence in different geographic regions of Brazil, 2002–2007. *Ciênc. saúde coletiva*, 17(1), 239-244.

Eliakim-Ikechukwu, C.F., Obri, A.I., Akpa, O.A., 2010. Phytochemical and micronutrient composition of *Anacardium occidentale* Linn (cashew) stem-bark hydroethanolic extract and its effect on the fasting blood glucose levels and body weight of diabetic wistar rats. *The Internet Journal of Nutrition and Wellness* 10.

Fagbohun, T.R., Odufuwa, K.T., 2010. Hypoglycemic effect of methanolic extract of *Anacardium occidentale* leaves in alloxan-induced diabetic rats. *Nigerian journal of physiological sciences: official publication of the Physiological Society of Nigeria* 25, 87-90.

Gautam, K., Kumar, P., Jain, C., 2013. Comparative study of alpha amylase inhibitory activity of flavonoids of *Vitex negundo* Linn. and *Andrographis paniculata* Nees. *International Journal of Green Pharmacy* 7, 25-28

Gbodossou, E., Vidjin, A., 2002. inventors; Medicinal plant extracts used in the treatment of diabetic diseases. France.

Goudy, K.S., Burkhardt, B.R., Wasserfall, C., Song, S., Campbell-Thompson, M.L., Brusko, T., Powers, M.A., Clare-Salzler, M.J., Sobel, E.S., Ellis, T.M., Flotte, T.R., Atkinson, M.A., 2003. Systemic overexpression of IL-10 induces CD4+CD25+ cell populations in vivo and ameliorates type 1 diabetes in nonobese diabetic mice in a dose-dependent fashion. *J Immunol.* 171(5):2270-2278.

Green, I.R., Tocoli, F.E., Lee, S.H., Nihei, K.I., Kubo, I. 2007. Molecular design of anti-MRSA agents based on the anacardic acid scaffold. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 15(18), 6236-6241.

- Gupta, S., Sharma, S.B., Bansal, S.K., Prabhu, K.M., 2009. Antihyperglycemic and hypolipidemic activity of aqueous extract of *Cassia auriculata* L. leaves in experimental diabetes. *J Ethnopharmacol.* 123(3): 499-503.
- Hamdan, I.I., Afifi, F., Taha, M.O., 2004. In vitro alpha amylase inhibitory effect of some clinically-used drugs. *Pharmazie* 59: 799–801.
- Harvey, L.A., 2010. Plant Natural Products in Anti-Diabetic Drug Discovery. *Current Organic Chemistry* 14, 1670-1677.
- Heinrich, M., 2000. Ethnobotany and its role in drug development. *Phytotherapy Research*, (14), 479-88
- Hemshekhkar, M., Sebastin Santhosh, M., Kemparaju, K., Girish, K.S., 2012. Emerging Roles of Anacardic Acid and Its Derivatives: A Pharmacological Overview. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, Vol.110(2).
- Henriques, N.A.D.P.C., 2013. Avaliação da atividade hipoglicemiante do extrato bruto de *Bauhinia holophylla* (Steud.) em camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina.
- Hininger-Favier, I., Benaraba, R., Coves, S., Anderson, R.A., 2009. Green tea extract decrease oxidative stress and improved insulin sensitivity in an animal model of insulin resistance, the fructose-fed rat. *J Am Coll Nutr*, 28, 355–361.
- Homo-Delarche, F., 2004. Neuroendocrine immuno-ontogeny of the pathogenesis of autoimmune disease in the nonobese diabetic (NOD) mouse. *Ilar J.* 45(3): 237-258.
- Islam, M.S., Choi, H., 2007. Nongenetic models of type 2 diabetes: a comparative study. *Pharmacology*, 79, 243–249.
- Ismail Shareef, M., Jagan Mohan, R.P., Gopinath, S.M., Dayananda, K.S., Ajay, M., Purushotham, K.M., 2014. *In Vitro*  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Activity of the

Leaves of *Tinospora cordifolia*. International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology. Vol. 3, Issue 3.

Jeha, G.S., 2007. Haymond M: Understanding and interpreting laboratory test results in the clinical management of diabetes mellitus. *Pediatr Endocrinol Rev.* 5(1): 608-628.

Jianbo, X., Xiaoling, N., Guoyin, K., Xiaoqing, C., 2013. A Review on Structure–Activity Relationship of Dietary Polyphenols Inhibiting  $\alpha$ -Amylase, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53:5, 497-506.

Junior, V.F.V., Pinto, A.C., Maciel, M.A.M., 2005. Plantas medicinais: cura segura. *Química nova*, 28(3), 519-528

Kahn, S. E., Cooper, M. E., Del Prato, S., 2014. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *The Lancet*, 383(9922), 1068-1083.

Kam, A., Li, K.M., Razmovski-Naumovski, V., Nammi, S., Shi, J., Chan, K., Li, G.Q., 2013. A comparative study on the inhibitory effects of different parts and chemical constituents of pomegranate on  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Phytother Res.* 2013 Nov;27(11):1614-20.

Kamtchouing, P., Sokeng, S.D., Moundipa, P.F., Watcho, P., Jatsa, H.B., Lontsi, D., 1998. Protective role of *Anacardium occidentale* extract against streptozotocin-induced diabetes in rats. *J Ethnopharmacol.* 62(2):95-99.

Katsumata, K., Katsumata, K.Jr., Katsumata, Y., 1992. Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan- or streptozotocin-induced diabetes in rats. *Horm Metab Res*, 1992, 24, 508–510.

Kazeem, M.I., Abimbola, S.G., Ashafa, A.O.T., 2013. Inhibitory potential of *Gossypium arboreum* leaf extracts on diabetes key enzymes, alpha-amylase and alpha-glucosidase. *Bangladesh Journal Of Pharmacology* 8, 149-155.

Kim, Y.M., Wang, M.H., Rhee, H.I., 2004. A novel  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from pine bark. *Carbohydrate Research*, 339, pp. 715–717.

Lee, M., Ko, K.S., Oh, S., Kim, S.W., 2003. Prevention of autoimmune insulinitis by delivery of a chimeric plasmid encoding interleukin-4 and interleukin-10. *J Control Release*. 88(2):333-342.

Lee, J., Dang, D.K., 2012. Diabetes mellitus: Pathophysiology, diagnosis, screening, and risk factors. *Drug Topics* 156, 44-51.

Lin, Y., Sun, Z., 2010. Current views on type 2 diabetes. *Journal of Endocrinology*, 204(1), 1-11.

Lorenzi, H.M.J.A., 2002. *Plantas Medicinais do Brasil: nativas, exóticas e cultivadas*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarium.

Malerbi, D., Franco, L.J., 1992. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30 a 69 years. *Diabetes Care*. 15(11):1509-16.

Malini, P., Kanchana, G., Rajadurai, M., 2011. Antibabetic efficacy of ellagic acid in streptozotocin-induced diabetes mellitus in albino wistar rats. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, Vol.4(3), pp.124-128.

Malta, D.C., Bernal, R.T.I., Nunes, M.L., Oliveira, M.M., Iser, B.P.M., Andrade, S.S.C.A., Claro, R.M., Monteiro, C.A., Silva Jr, J.B., 2014. Prevalência de fatores de risco e proteção para doenças crônicas não transmissíveis em adultos: estudo transversal, Brasil 2012. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 23(4), 609-622.

Marchesini, G., Nardi, R., Ricci, R., Andrighetto, I., Serva, L., Segato, S., 2014. Effects of carbohydrase inhibiting compounds on *in vitro* rumen fermentation. *Italian Journal of Animal Science*; volume 13:3264.

Marshall, J.J., Lauda, C.M., 1975. Purification and Properties of Phaseolamin, an Inhibitor of  $\alpha$ -Amylase, from the Kidney Bean, *Phaseolus vulgaris*. THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. Vol. 250, No. 20, Issue of October 25, pp. 8037-8047.

Marles, R.J., Farnsworth, N.R., 1995. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2, 137-189.

Matsuura, H., Asakawa, C., Kurimoto, M., Mizutani, J., 2002.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitor from the seeds of balsam pear (*Momordica charantia*) and the fruit bodies of *Grifola frondosa*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66, pp. 1576–1578.

Matsuura, H., Miyazaki, H., Asakawa, C., Amano, M., Yoshihara, T., Mizutani, J., 2004. Isolation of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from hyssop (*Hyssopus officinalis*). *Phytochemistry*, 65, pp. 91–97.

Maxion-Bergemann, S., Wolf, M., Bornhöft, G., Matthiessen, P., Wolf, U., 2006. Complementary and alternative medicine costs—a systematic literature review. *Forschende Komplementärmedizin/Research in Complementary Medicine*, 13(2), 42-45

Menezes, E.A., Tome, E.R., Nunes, R.N., Nunes, A.P., Freire, C.C., Torres, J.C., 2002. Extracts of *Anacardium occidentale* (cashew) pollen in patients with allergic bronchial asthma. *J Invest Allergol Clin Immunol*. 12(1): 25-28.

Menichini, F., 2010. Natural Products as Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 10, 315-331.

Mogale, M. A., Lebelo, S. L., Thovhogi, N., de Freitas, A. N., Shai, L. J., 2013.  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects of *Sclerocarya birrea* [(A. Rich.) Hochst.] subspecies *caffra* (Sond) Kokwaro (Anacardiaceae) stem-bark extracts. *African Journal of Biotechnology*, 10(66), 15033-15039.

Mooradian, A.D., 2009 Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 5(3): 150-159.

Motta, M., Bennati, E., Cardillo, E., Ferlito, L., Malaguarnera, M., 2009. The value of glycosylated hemoglobin (HbA1c) as a predictive risk factor in the diagnosis of diabetes mellitus (DM) in the elderly. *Arch Gerontol Geriatr.* 50(1): 60-64.

Muretta, J.M., Mastick, C.C., 2009. How insulin regulates glucose transport in adipocytes. *Vitam Horm.* 80: 245-86.

Naowaboot, J., Pannangpetch, P., Kukongviriyapan, V., Kongyingyoes, B., Kukongviriyapan, U., 2009. Antihyperglycemic, Antioxidant and Antiglycation Activities of Mulberry Leaf Extract in Streptozotocin-Induced Chronic Diabetic Rats. *Plant Foods Hum Nutr.* 64(2): 116-121.

Nishigaki, A., Noma, H., Kakizawa, T., 1989. The relations between doses of streptozotocin and pathogenesis in induced diabetes mellitus (Japanese). *Shikwa Gakuho*, 89, 639–662.

Ojewole, J.A., 2003. Laboratory evaluation of the hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* Linn (Anacardiaceae) stem-bark extracts in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 25(3):199-204.

Olajide, O.A., Aderogba, M.A., Adedapo, A.D., Makinde, J.M., 2004. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on in vivo inflammatory models. *J Ethnopharmacol.* 95(2-3):139-142.

Oliveira, J.E.P., Milech, A., 2004. Editors. Diabetes mellitus: clínica, diagnóstico e controle multidisciplinar. São Paulo: Atheneu.

Oliveira, J.E.P., Monteiro, J.B.R., Araújo, C.G.S., 2003. Diabetes mellitus tipo 2: terapêutica clínica prática. Rio de Janeiro: Med Line.

Olokoba, A.B., Obateru, O.A., Olokoba, L.B., 2012. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Med J*, 27(4), 269-273.

Orhan, N., Aslan, M., Orhan, D.D., Ergun, F., Pekcan, M., Bedir, E., 2012. Identification of hypoglycaemic compounds from berries of *Juniperus oxycedrus* subsp. *oxycedrus* through bioactivity guided isolation technique. *Journal of Ethnopharmacology*, 6 Vol.139(1), pp.110-118.

Ow, Y., Stupans, L., 2003. Gallic Acid and Gallic Acid Derivatives: Effects on Drug Metabolizing Enzymes. *Current Drug Metabolism*, Vol.4(3), p.241-248.

Padberg, I., Peter, E., González-Maldonado, S., Witt, H., Mueller, M., Weis, T., Bethan, B., Liebenberg, V., Wiemer, J., Katus, H.A., Rein, D., Schatz, P.A., 2014. New metabolomic signature in type-2 diabetes mellitus and its pathophysiology. *PLoS ONE(PLoS ONE)* 9.

Pandikumar, P., Babu, N.P., 2009. Ignacimuthu S: Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Begonia malabarica* Lam. in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*, 124(1): 111-115.

Punithavathi, V.R., Prince, P.S.M., Kumar, R., Selvakumari, J., 2011. Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of galic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, Vol.650(1), pp.465-471.

Raman B.V., Naga, V.K.A., Narasimha, R.B., Pardha Saradhi, M., Basaveswara Rao M.V., 2012. Plants with antidiabetic activities and their medicinal values. *Internacional Research Journal of Pharmacy* 3, 11.

Ramnik, S., 2010. Antihyperglycemic effect of ethanolic extract and fractions of *Anacardium occidentale* L. stem bark in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy* 1, 16.

Ratsimamanga, S., 1981. Inventor Extrait végétal à propriétés antidiabétiques et son procédé de préparation. France patent 2465484.

Rawat, G., Tripathi, P., Saxena, R., 2013. Expanding horizons of shikimic acid . Applied Microbiology and Biotechnology, Vol.97(10), pp.4277-4287.

Rehman, K.K., Trucco, M., Wang, Z., Xiao, X., Robbins, P.D., 2008. AAV8-mediated gene transfer of interleukin-4 to endogenous beta-cells prevents the onset of diabetes in NOD mice. Mol Ther, 16(8):1409-1416.

RENISUS, 2014. Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Acesso: 22/08/2014  
[<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>]

Revathi, P., Senthinath, T.J., Shyam, K.P., 2011. A Comparative Study of Acarbose and Voglibose on Postprandial Hyperglycemia and serum lipids in Type 2 Diabetic patients.

Rhabasa-Lhoret R., Chiasson J.L., 2004. Alpha-glucosidase inhibitors (3rd ed.). R.A. Defronzo, E. Ferrannini, H. Keen, P. Zimmet (Eds.), International textbook of diabetes mellitus, Vol. 1 John Wiley.

Roby, J.F., 2005. Inhibition, activation, and stabilization of  $\alpha$ -amylase family enzymes. Biologia Bratislava, 16, 17-26.

Roglic, G., Unwin, N., Bennett, P.H., Mathers, C., Tuomilehto, J., Nag, S., 2005. The burden of mortality attributable to diabetes: realistic estimates for the year 2000. Diabetes Care 28, 2130-2135.

Roman, G., Hancu, N. 2009. Early insulin treatment to prevent cardiovascular disease in prediabetes and overt diabetes. Hormone and metabolic research= Hormon-und Stoffwechselforschung= Hormones et metabolisme, 41(2), 116-122.

Sales, P.M.; Souza, P.M.; Simeoni, L.A.; Magalhães, P.O.; Silveira, D., 2012.  $\alpha$ -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol.15(1), pp.141-183.

Samad, A., Shams, M.S., Ullah, Z., Wais, M., Nazish, I., Sultana, Y., 2009. Status of herbal medicines in the treatment of diabetes: a review. *Curr Diabetes Rev.*, 5(2):102-111.

Saravanamuttu, S., Sudarsanam, D., 2012. Antidiabetic plants and their active ingredients: a review.(Report). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 3, 3639-3651.

SBD - Brazilian Society of Diabetes, 2010. Algorithm for the treatment of type 2 diabetes: a position statement of Brazilian Society of Diabetes. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2:35.

Scheen, A.J., 2003. Is there a role for  $\alpha$ -glucosidase inhibitors in the prevention of type 2 diabetes mellitus?. *Drugs*, 63(10), 933-951

SDB, 2014. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014/Sociedade Brasileira de Diabetes ; [organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio]. – São Paulo: AC Farmacêutica.

Silva, T.A., GUERRA, R.N.M., 2010. Ação anti-dabetes do extrato das flores de *Anacardium occidentale*. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Maranhão.

Silva, T.A., Guerra R.N.M., 2009. PROCESSO PARA OBTENÇÃO DE FLORES DE *ANACARDIUM OCCIDENTALE* L. (CAJUEIRO), EXTRATO HIDRO-ALCOÓLICO, LIOFILIZADO, SECO POR ATOMIZAÇÃO, CHÁ, SUAS COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E USO TERAPÊUTICO. Patente Nº PI0903172-3A2.

Sim, L., Jayakanthan, K., Mohan, S., Nasi, R., Johnston, B.D., Pinto, B.M., Rose, D.R., 2010. New glucosidase inhibitors from an ayurvedic herbal treatment for type 2 diabetes: structures and inhibition of human intestinal maltase-glucoamylase with compounds from *Salacia reticulata*. *Biochemistry* 49, 443-51.

Sindhu. S.N., Vaibhavi, K., Anshu M., 2013. In vitro studies on alpha amylase and alpha glucosidase inhibitory activities of selected plant extracts. *Euro. J. Exp. Bio.*, 3(1):128-132

Singh, A., Jain, A., Sarma, B.K., Upadhyay, R.S., Singh, H.B., 2014. Rhizosphere competent microbial consortium mediates rapid changes in phenolic profiles in chickpea during *Sclerotium rolfsii* infection. *Microbiological research*, 169(5), 353-360.

Srinivasan, K., Viswanad, B., Asrat, L., Kaul, C.L., Ramarao P., 2005. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacol Res*, 52, 313–320.

Stark, A.H., Timar, B., Madar, Z., 2000. Adaptation of Sprague Dawley rats to long-term feeding of high fat of high fructose diets. *Eur J Nutr*, 39, 229–234

Subbarao, C.N.V., Krishna Prasad, C.N.V., Prasad, C.N.V., 2011. Review on applications, extraction, isolation and analysis of cashew nut shell liquid (CNSL). *Pharma Research*, Vol.6(1), pp.21-41

Tahirovic, H., Toromanovic, A., Feukic, A., Ostrvica, D., 2007. Clinical and laboratory characteristics at onset of type 1 diabetes mellitus in children. *Lijec Vjesn*, 129(3-4): 61-65.

Tedong, L., Dimo, T., Dzeufiet, P.D.D., Asongalem, A.E., Sokeng, D.S., Callard, P., 2006. Antihyperglycemic and renal protective activities of *Anacardium occidentale* (anacardiaceae) leaves in streptozotocin induced diabetic rats. *Afr J Trad.* 3: 23-35.

Tedong, L., Madiraju, P., Martineau, L.C., Vallerand, D., Lavoie, L., Haddad, P.S., Arnason, J.T., Desire, D.D.P., Kamtchouing, P., 2010. Hydro-ethanolic extract of cashew tree (*Anacardium occidentale*) nut and its principal compound, anacardic acid, stimulate glucose uptake in C2C12 muscle cells. *Molecular Nutrition and Food Research*, Vol.54(12), 1753-1762

Tovar, J.M., Bazaldua, O.V., Loffredo, A., 2008. Diabetic dyslipidemia: a practical guide to therapy. *J Fam Pract*, 57(6): 377-388.

Trevisan, M.T.S., Pfundstein, B., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., Owen, R. W. 2006. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. *Food and Chemical Toxicology*, 44(2), 188-197

Tucci, S.A., Boyland, E.J., Halford, J.C., 2010. The role of lipid and carbohydrate digestive enzyme inhibitors in the management of obesity: a review of current and emerging therapeutic agents. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 3, 125–143.

Tundis, R., Loizzo, M.R., Menichini, F., 2010. Natural products as alpha-amylase and alpha-glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: an update. *Mini Rev Med Chem*. 10(4):315-31.

Urakami, T., Morimoto, S., Nitadori, Y., Harada, K., Owada, M., Kitagawa, T., 2007. Urine glucose screening program at schools in Japan to detect children with diabetes and its outcome-incidence and clinical characteristics of childhood type 2 diabetes in Japan. *Pediatr Res*, 61(2): 141-145.

Vattem, D.A., Shetty, K., 2005. Biological functionality of ellagic acid: a review. *J. Food Biochem.*, 29(3): 234–266.

WHO - World Health Organization, 2002a. The World Health Organization Report 2002: reducing risks, promoting healthy life. Geneve, WHO.

WHO - World Health Organization, 2002b. Diabetes: the cost of diabetes. WHO fact sheet. September, n. 236

WHO - World Health Organization, 2008. Fact sheet: diabetes 2008 [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/index.html>]

WHO - World Health Organization, 2014. Diabetes Action Online, Diabetes Programme, About diabetes. Access 30/10/2014 in ([http://www.who.int/diabetes/action\\_online/basics/en/index1.html](http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/en/index1.html))

WHO - World Health Organization, 2014. Prevalence of diabetes worldwide. Access: 20/08/2014 [[http://www.who.int/diabetes/facts/world\\_figures/en/](http://www.who.int/diabetes/facts/world_figures/en/)].

Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H., 2004. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care. 27(5):1047-53.

Wilson, R.D., Islam M.S., 2012. Fructose-fed streptozotocin-injected rat: an alternative model for type 2 diabetes. Pharmacol Rep.64(1):129-39.

Wopereis, S., Rubingh, C.M., Van Erk, M.J., Verheij, E.R., Van Vliet, T., Cnubben, N.H., Hendriks, H.F. 2009. Metabolic profiling of the response to an oral glucose tolerance test detects subtle metabolic changes. PloS one, 4(2), e4525-e4525.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados demonstram um bom efeito inibitório do extrato hidroalcoólico das flores, do ácido anacárdico, do ácido elágico e da mistura dos ácidos anacárdico, elágico e chiquímico sobre a atividade das enzimas  $\alpha$  amilase e  $\alpha$  glicosidase.

O extrato hidroalcoólico das flores de *A. occidentale*, nas doses acima de (5mg/Kg), também induziu efeito benéfico no diabetes mellitus, reduzindo e modulando a glicose sanguínea após controle agudo e crônico, bem como parâmetros associados a complicações no diabetes. É provável que o mecanismo de ação do extrato esteja relacionado ao aumento da sensibilidade periférica a insulina, entretanto são necessários estudos ainda mais detalhados sobre o efeito observado, bem como para o estabelecimento da segurança no consumo do extrato.

Esses resultados em conjunto apontam que *A. occidentale* é uma promissora espécie para o desenvolvimento de uma nova opção terapêutica para o controle da diabetes. Tendo em vista sua ampla utilização tradicional por varias populações, sua baixa toxicidade e atividade farmacológica em vários ensaios *in vivo* e *in vitro*. Entretanto são necessárias pesquisas que elucidem os mecanismos de ação e substâncias ativas responsáveis pelo efeito terapêutico, bem como estudos que comprovem a real segurança de seu uso.

## 6. REFERENCIAS:

Alberti K.G.M.M.; Zimmet P.Z. For the World Health Organization Consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO. 1999.

Albuquerque J. Plantas Medicinais de uso popular. Brasília. 1989.

ADA - American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 36 (suppl. 1):S67-74. 2013.

SBD - Brazilian Society of Diabetes. Algorithm for the treatment of type 2 diabetes: a position statement of Brazilian Society of Diabetes. Diabetology & Metabolic Syndrome, 2:35. 2010.

Cruz G. Dicionário de Plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Ed. Civilização Brasileira. 1985.

Dias, J.C.R.; Campos, J.A.D.B. Diabetes mellitus: razão de prevalências nas diferentes regiões geográficas no Brasil, 2002–2007. Diabetes mellitus: reasons for prevalence in different geographic regions of Brazil, 2002–2007. Ciênc. saúde coletiva, 17(1), 239-244. 2012.

SBD - Sociedade Brasileira de Diabetes. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2013-2014/Sociedade Brasileira de Diabetes ; [organização José Egidio Paulo de Oliveira, Sérgio Vencio]. – São Paulo: AC Farmacêutica. 2014.

Fagbohun, T.R.; Odufuwa, K.T. Hypoglycemic effect of methanolic extract of Anacardium occidentale leaves in alloxan-induced diabetic rats. Nigerian journal of physiological sciences: official publication of the Physiological Society of Nigeria 25, 87-90. 2010.

Kahn S.E.; Cooper M.E.; Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: Perspectives on the past, present, and future. The Lancet, 383 (9922),1068-1083. 2014.

Lin, Y.; Sun, Z. Current views on type 2 diabetes. *Journal of Endocrinology*, 204(1), 1-11. 2010.

Malerbi D.; Franco L.J. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30 a 69 years. *Diabetes Care*. 15(11):1509-16. 1992.

Malta, D.C. Prevalência de fatores de risco e proteção para doenças crônicas não transmissíveis em adultos: estudo transversal, Brasil, 2011. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília , v. 22, n. 3, set. 2013.

Marles, R.J.; Farnsworth, N.R. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2, 137-189. 1995.

Menichini, F. Natural Products as  $\alpha$ -Amylase and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry* 10, 315-331. 2010.

Oliveira, J.E.P.; Milech, A. Diabetes mellitus: clínica, diagnóstico e controle multidisciplinar. São Paulo: Atheneu. 2004.

Oliveira, J.E.P.; Monteiro, J.B.R.; Araújo, C.G.S. Diabetes mellitus tipo 2: terapêutica clínica prática. Rio de Janeiro: Med Line. 2003

Olokoba, A.B.; Obateru, O.A.; Olokoba, L.B. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Medical Journal*. 27(4):269-273. doi:10.5001/omj.2012.68. 2012.

Raman, B.V.; Naga, V.K.A.; Narasimha, R.B.; Pardha S.M.; Basaveswara R.M.V. PLANTS WITH ANTIDIABETIC ACTIVITIES AND THEIR MEDICINAL VALUES. *Internacional Research Journal of Pharmacy* 3, 11. 2012.

Ramnik, S. ANTIHYPERGLYCEMIC EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT AND FRACTIONS OF ANACARDIUM OCCIDENTALE L. STEM BARK IN

STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETIC RATS. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy* 1, 16. 2010.

Silva, T.A.; GUERRA R.N.M. Ação anti-dabetes do extrato das flores de *Anacardium occidentale*. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Maranhão. 2010.

Tedong, L.; Madiraju, P.; Martineau, L.C.; Vallerand, D.; Arnason, J.T.; Desire, D.D.P.; Lavoie, L.; Kamtchouing, P.; Haddad, P.S. Hydro-ethanolic extract of cashew tree (*Anacardium occidentale*) nut and its principal compound, anacardic acid, stimulate glucose uptake in C2C12 muscle cells. *Molecular Nutrition & Food Research* 54, 1753-1762. 2010.

Wild, S.; Roglic, G.; Green, A.; Sicree, R.; King, H. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27(5):1047-53. 2004.

WHO - World Health Organization. The World Health Organization Report 2002: reducing risks, promoting healthy life. Geneve, WHO. 2002a

WHO - World Health Organization. Diabetes: the cost of diabetes. WHO fact sheet. September, n. 236. 2002b