



RENORBIO

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

**Ação antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L.:
Potencial biotecnológico na geração de produtos anticárie**

Rubenice Amaral da Silva

**São Luís - MA
2012**

RUBENICE AMARAL DA SILVA

Ação antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L.: Potencial biotecnológico na geração de produtos anticárie

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Ponto Focal Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Rosane Nassar Meireles Guerra

Coorientador: Prof. Dr. Valério Monteiro Neto

São Luís - MA

2012

Silva, Rubenice Amaral

Ação antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L.: potencial biotecnológico na geração de produtos anticárie / Rubenice Amaral da Silva. – 2012.

153f.

Impresso por computador

Orientadora: Dra. Rosane Nassar Meireles Guerra

Coorientador: Dr. Valério Monteiro Neto

Tese (Doutorado) – Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, 2012.

1. *Anacardium occidentale*. 2. Anticárie. 3. Antibacteriano. 4. Caju, 5. Fungicida. 6. Flores

CDU 616.314-002: 634.573

RUBENICE AMARAL DA SILVA

Ação antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L.: Potencial biotecnológico na geração de produtos anticárie

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO, Ponto Focal Maranhão, como requisito para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Patricia Maria Silva Figueiredo
UNICEUMA - (Examinadora)

Profa. Dra. Ana Paula Silva de Azevedo dos Santos
UFMA – (Examinadora)

Profa. Dra. Ana Lucia Abreu Silva
UEMA – (Examinadora)

Profa. Dra. Flavia Raquel F. do Nascimento
UFMA – (Examinadora)

Profa. Dra. Rosane Nassar Meireles Guerra
UFMA – (Orientadora)

Prof. Dr. Valério Monteiro Neto
UFMA - (Coorientador)

*A ti, ó Deus, que és magnificante:
sobrevestido de glória e majestade, cujo trono
está nas alturas, mas que se inclina para ver o
que se passa sobre a terra. A ti que és o meu
salvador, misericordioso, compassivo e justo, e
que pelo teu imenso amor nunca me
desamparaste, minha eterna e sincera
gratidão.*

Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, João e Terezinha, por me ensinarem o caminho pelo qual trilhei e até aqui cheguei com a convicção de que o temor do Senhor é o princípio da sabedoria, pois a sabedoria lá do alto é, primeiramente pura, depois pacífica, indulgente, tratável, plena de misericórdia e de bons frutos, imparcial, sem fingimento. Obrigada pelo apoio incondicional a minha trajetória escolar, desde a alfabetização à pós-graduação e magistério superior.

Aos meus irmãos: Ruberval, Rubem, Rubemar, Rui, Rubenilson e irmãs: Rubenita, Rubinéa, Rúbia, Rubenilde, Rubeilda, Rubecy e Terezinha, pelas orações, apoio constante e incentivo na elaboração deste trabalho.

Ao meu irmão Ruberly (*in memorian*) e irmãs: Rute e Rubelita (*in memorian*) minha eterna lembrança, se estivessem conosco, com certeza também me apoiariam.

À minha querida orientadora, Profa. Dra. Rosane Nassar Meireles Guerra, exemplo de compromisso com a docência e pesquisa científica, pela competente orientação, sem a qual não seria possível a realização deste trabalho. Apesar de suas incontáveis atividades, sei que nessa nossa trajetória orientadora/orientanda esforçou-se para fazer o melhor possível.

Ao meu querido coorientador, Prof. Dr. Valério Monteiro Neto, pelos ensinamentos em microbiologia a mim transmitidos com competência, paciência e pela pronta disponibilidade todas às vezes quando solicitado nas práticas laboratoriais e coorientação segura na elaboração deste trabalho.

À querida Profa Dra. Luce Maria Brandão Torres, pela disponibilidade nas realizações das análises cromatográficas em HPLC, GC-MS e demais ensaios fitoquímicos, além da amizade que surgiu com o nosso convívio.

Minha eterna gratidão!

À minha colega de profissão, Profa. Dra. Silvana Amado Libério, pela sua disposição em colaborar na realização dos meus experimentos de microbiologia e pela amizade surgida com o nosso convívio laboratorial.

À Profa. Ms. Diana Maria Mendes, Departamento de Farmácia/UFMA, pela indispensável contribuição na obtenção do bioproduto.

À Profa. Dra. Flávia Maria M. do Amaral, Departamento de Farmácia/UFMA, por sua colaboração na realização do screening fitoquímico da espécie vegetal estudada.

Às Professoras Doutoras Maria Nilce Souza Ribeiro, Azizedite Guedes Gonçalves e Flavia Raquel Fernandes do Nascimento, pelas valiosas sugestões no exame de qualificação que muito contribuíram para a conclusão deste trabalho.

À Profa. Dra. Ana Lúcia Abreu Silva, minha amiga e irmã em Cristo, pelas palavras de incentivo no decorrer do curso e desenvolvimento deste trabalho.

À Profa. Dra. Sônia Maria de Farias Freire, a minha admiração por sua calma e paciência quando da realização de seus ensaios, assim tornava o laboratório um ambiente sem estresse.

Aos colegas Selma e Richard pela ajuda em relação aos cálculos, gráficos e tabelas dos ensaios fitoquímicos.

Aos colegas: Silvana, Tatiana, Estevam, Pierre, Hermínio, Mariana e Cadidja pela convivência, colaboração e amizade surgida e fortalecida durante o nosso convívio, pois todos nós estávamos na mesma embarcação de ensaios, num mar de micro-organismos.

Aos técnicos Marcos Bispo (UFMA) e Marinaldo (UNICEUMA) sempre bem humorados e dispostos a prestar-me ajuda quando solicitados.

Às alunas do laboratório do Instituto Botânico - SP, Darlaine, Vanessa e Fernanda pelo auxílio na realização dos ensaios antioxidantes do meu material botânico.

Às minhas colegas da disciplina odontopediatria do Departamento de Odontologia II/UFMA, Elizabeth, Cecília e Gisele pelo apoio integral ao meu afastamento quando assumiram e distribuíram entre si, minhas atividades docentes, sem problemas.

Ao Tonicley Alexandre da Silva pela sua indispensável contribuição na elaboração da patente.

Ao Prof. Dr. Frederico Silva de Freitas Fernandes, meu amigo Fred, pela ajuda e disponibilidade na formatação deste trabalho.

Aos meus colegas de doutorado: Ana Lígia, Andrea, Jeamile, Marcelo, Márcio, Mércia, Newton, Orlando, Rachel, Sofia, Vicente Ferrer e Vicente Gonçalves, pela agradável convivência nas aulas teóricas e seminários.

As minhas colegas de doutorado, Lena e Rita, pela amizade surgida e fortalecida com o nosso convívio nos trabalhos realizados em equipe e pelo apoio, a mim concedido no ambiente hospitalar, como excelentes enfermeiras que são.

À Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) pelo Programa de Pós-graduação em Biotecnologia oferecido, oportunidade a mim concedida.

As equipes dos Laboratórios de Imunofisiologia, Farmacognosia e de Farmacologia da Universidade Federal do Maranhão, Laboratório de Microbiologia do UNICEUMA e ao Departamento de Fisiologia e Bioquímica do Instituto Botânico de São Paulo, pelas contribuições na obtenção dos extratos, caracterização e obtenção dos resultados que integram esta tese.

À Fundação de Amparo a Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão - FAPEMA e ao Conselho Nacional de Pesquisa - CNPq, pelo apoio financeiro no desenvolvimento do projeto.

A todos aqueles que de alguma forma, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“Deveras me apliquei a todas estas coisas para claramente entender tudo isto: que os justos, e os sábios, e os seus feitos estão nas mãos de Deus; e, se é amor ou se é ódio que está à sua espera, não o sabe o homem. Tudo lhe está oculto no futuro”.

(Ec. 9:1)

RESUMO

Anacardium occidentale L. (Anacardiaceae), espécie nativa do Brasil, é conhecida popularmente como cajueiro e muito utilizada como alimento e medicamento. O presente estudo teve como objetivos: organizar os dados publicados sobre as propriedades antimicrobianas de *Anacardium occidentale*, avaliar a ação antioxidante e antimicrobiana e investigar a composição química dos extratos das flores (EBFL), folhas (EBFO) e da casca do caule (EBC) de *A. occidentale* e avaliar a atividade antimicrobiana de um bioproduto obtido, visando sua utilização na profilaxia e tratamento auxiliar da cárie. A revisão considerou publicações de: Medline, Lilacs, Scielo, Chemical abstracts, PubMed, Biological Abstract, Web of Sciences e Highwire, entre 1980 e 2011, usando como descritores: *Anacardium occidentale* e as atividades antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica e farmacológica e caju. A ação antioxidante foi determinada pelo ensaio de 2,2-difenil-picrilhidrazila (DPPH) e a antimicrobiana por difusão em agar, diluição em caldo e determinação da concentração bactericida (CBM) ou fungicida (CFM) mínima, utilizando cepas padrão de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Staphylococcus aureus* e MRSA, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Candida albicans* e amostras clínicas de *Salmonella choleraesuis*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. A composição química foi determinada por colorimetria, cromatografia e espectroscopia. Do extrato das flores (EBFL), o mais ativo, foram obtidas frações que foram avaliadas quanto à ação antimicrobiana. Em relação a revisão de literatura foram encontrados 44 artigos e 3 dissertações sobre propriedades antimicrobianas do cajueiro. A maioria dos estudos utilizou extratos da casca (30%) e *Staphylococcus aureus*, incluindo as cepas MRSA, foram os micro-organismos mais estudados (68%). Nos ensaios para determinar a atividade antioxidante todos os extratos apresentaram valores semelhantes a quercetina, utilizada como controle positivo. Os resultados dos protocolos experimentais mostraram que o EBFL apresentou ação antimicrobiana mais efetiva por inibir o crescimento de todos os micro-organismos testados, tanto em culturas planctônicas como no biofilme. A fração F1 e um bioproduto à base de EBFL também apresentaram potente ação antimicrobiana sendo tão efetivos sobre micro-organismos cariogênicos quanto à clorexidina. No EBFL foram identificados ácidos orgânicos, alcaloides, compostos fenólicos, taninos hidrolisáveis, flavonas, flavonóis, xantinas, esteroides e triterpenos. Concluímos que as propriedades antimicrobianas e antioxidantes das flores podem estar relacionadas à presença de flavonoides e/ou de compostos fenólicos tais como ácidos anacárdicos, cardol e cardanol. Importante ressaltar que este trabalho é o primeiro relato sobre de *A. occidentale* quanto ao uso profilático e terapêutico em doenças bucais, em especial, a cárie e a candidíase.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*, Anticárie, Antimicrobiano, Caju, Antioxidante.

ABSTRACT

Anacardium occidentale, family Anacardiaceae, is popularly known as cashew tree and it is widely used as food and medicine. This study aimed to review data on antimicrobial properties of *Anacardium occidentale*, to evaluate the antioxidant and antimicrobial action and to investigate the chemical composition of the extracts of flowers (EBFL), leaves (EBFO) and stem bark (EBC) of *A. occidentale*, to evaluate the antimicrobial activity of the byproduct obtained in order to use it in the prophylaxis and adjunctive treatment of caries. This review considered publications by Medline, Lilacs, Scielo, Chemical Abstracts, PubMed, Biological Abstract, Web of Sciences and Highwire, between 1980 and 2011, using the descriptors: *Anacardium occidentale*, antimicrobial, antibacterial, antifungal and pharmacological activity and cashew. The antioxidant activity was determined by DPPH assay and the antimicrobial activity by agar diffusion, broth dilution, determination of the minimum bactericidal concentration (MBC) or minimum fungicide concentration (MFC), using standard strains of *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Helicobacter pylori* and *Candida albicans* and clinical samples of *Salmonella choleraesuis*, *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. The chemical composition was determined by colorimetry, chromatography and spectroscopy. The EBFL, more active, was fractionated and the fractions were also evaluated for antibacterial action. Regarding the literature review, 44 articles and 3 dissertations about antimicrobial properties of cashew tree were found. Bark extracts were the mostly used in those researches (30%). *Staphylococcus aureus*, including MRSA strains were the most studied microorganisms (68%). All extracts have showed antioxidant activity compared to quercetin. On the other hand, the result of experimental protocols showed that the EBFL was presented as the one with the most active antimicrobial action against all microorganisms evaluated either in planktonic cultures or the biofilm. The fraction F1 and bioproduct-based EBFL have also showed potent antimicrobial activity. In EBFL there were identified organic acids, alkaloids, phenolics, hydrolysable tannins, flavones, flavonols, xanthines, steroids and triterpenes. This is the first research on the antioxidant and antimicrobial properties of the flowers of *A. occidentale* on the prophylactic and therapeutic use in oral diseases, particularly caries and candidiasis, activities that may be related to the presence of flavonoids, tannins, organic acids, alkaloids and phenolic compounds such as anacardic acid, cardol and cardanol.

Keywords: *Anacardium occidentale*, Anticaries, Antimicrobial, Cashew, Antioxidant.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN: Acetonitrila

ATCC: American Type Culture Collection

BHI: Brain Heart Infusion (Infusão Cérebro Coração)

BSTFA: Bis(Trimetilsililfluoroacetamida)

C₃COOH: Ácido acético

CBM: Concentração Bactericida Mínima

CFM: Concentração Fungicida Mínima

CG/EM: Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massa

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CLAE/UV: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Ultra-Violeta

DA: Difusão em agar

DAC: Difusão em agar/ técnica do cilindro

DAD: Difusão em agar/ técnica dos discos

DAP: Difusão em agar/técnica dos poços

DC: Diluição em caldo

DP: Desvio Padrão

DPPH: 2,2 Diphenyl-1-picrylhydrazyla

EBC: Extrato bruto da casca do caule

EBFL: Extrato bruto das flores

EBFO: Extrato bruto das folhas

EVSM: Ensaio da Viabilidade de *Streptococcus mutans*

ESI-MS: *Electrospray Ionization Mass Spectrometry* - Espectrometria de Massa com ionização por eletrospray

°GL: graus Gay Lussac

HPLC: *High Performance Liquid Chromatography* (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)

HPLC - DAD/ESI-MS: High Performance Liquid Chromatography- Diode Array Detection/ Electrospray Ionization Mass Spectrometry (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de diodo acoplada a Espectrometria de Massas com fonte Electrospray)

HRMN: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

LCC: Líquido da casca da castanha de caju

m/z: Relação massa/carga

MIP: Microdiluição em placa

MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (*S. aureus* resistente à meticilina)

NR: Não realizado

PBPs: Penicillin-binding proteins (Proteínas de ligação às Penicilinas)

SCon: *Staphylococcus coagulase negativa*

SI: Sem inibição

TLC: Thin Layer Chromatography (Cromatografia em Camada Delgada)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Taxonomia de <i>Anacardium occidentale</i> L	17
2.2	Características botânicas de <i>Anacardium occidentale</i> L	17
2.3	Etnofarmacologia de <i>Anacardium occidentale</i> L	20
2.4	Atividades biológicas de <i>Anacardium occidentale</i> L	20
2.5	Dados físico-químicos de partes de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	22
2.6	Ação de <i>Anacardium occidentale</i> sobre micro-organismos associados à cárie dentária.....	26
2.7	Considerações sobre a cárie dentária.....	26
2.8	Medidas de prevenção e controle da cárie dentária	29
3	OBJETIVOS.....	35
4	CAPÍTULO I –Propriedades antimicrobianas de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	36
5	CAPÍTULO II –Prospecção química, atividade antimicrobiana e antioxidante das folhas, casca do caule e flores de <i>Anacardium occidentale</i> L.	66
6	CAPÍTULO III - Estudo químico e ação anticárie do extrato de flores de <i>Anacardium occidentale</i> L.	95
7	CAPÍTULO IV – Composições farmacêuticas e odontológicas à base de flores ou extrato de partes aéreas de <i>Anacardium occidentale</i> e uso dessas composições.....	124
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	125
9	PERSPECTIVAS FUTURAS	126
	REFERÊNCIAS	127
	ANEXOS	151

1 INTRODUÇÃO

Anacardium occidentale L., família Anacardiaceae, árvore tropical frutífera, nativa do Brasil, é conhecida popularmente como cajueiro. Esta espécie vem sendo utilizada para reflorestamento, como planta ornamental e para o sombreamento (LUCENA, 2006). Apresenta ampla dispersão na faixa litorânea da região norte e nordeste do Brasil, onde também tem grande importância econômica, devido à sua utilização na produção de sucos, doces, geleias, sorvetes entre outras (MAIA et al., 2000; ASSUNÇÃO; MERCADANTE, 2003; GARRUTI et al., 2006; ABULUDE et al., 2010).

A castanha, o verdadeiro fruto, é o principal produto de exploração e exportação. O pseudofruto, popularmente conhecido como caju apresenta elevados teores de vitamina C e sais minerais (LIMA et al., 1999; ASSUNÇÃO; MERCADANTE, 2003; AGOSTINI-COSTA et al., 2004) e é muito utilizado na preparação de sucos, doces caseiros e industrializados (GARRUTI et al., 2006; CABRAL, 2010).

A. occidentale apresenta uma variedade de propriedades farmacológicas, entre elas a atividade antimicrobiana de largo espectro (LAURENS et al., 1982; AKINPELU, 2001; OMOJASOLA; AWE, 2004; GONÇALVES et al., 2005a; DAHAKE et al., 2009; AGEDAH et al., 2010; AISWARYA et al., 2011a). Em geral, as folhas, a casca do caule, a castanha (fruto), o caju (pseudofruto) e a goma do cajueiro são utilizados em decotos e infusos, especialmente a casca do caule e as folhas, para tratar diarreias, hemorragias, inflamações, acnes, diabete, asma, dor de garganta, dor de dente, estomatites, entre outras (CORREA, 1984; BORBA; MACEDO, 2006; AISWARYA et al., 2011a; LUZ, 2001).

Muitas são as atividades etnobotânicas e farmacológicas atribuídas às várias partes do cajueiro, mas ainda são escassos os dados sobre as flores. Assim, investigamos a atividade antimicrobiana do extrato preparado com as flores em comparação aos extratos obtidos das folhas e casca do caule de *A. occidentale*.

A ação antimicrobiana dos extratos das folhas, casca e flores foi investigada primeiramente só para micro-organismos cariogênicos e/ou associados às infecções orais e posteriormente para outras bactérias e fungos. Diante dos resultados promissores do extrato bruto das flores investigamos também sua composição química. Assim, o extrato foi fracionado e também utilizado na preparação de uma formulação terapêutica, em forma de gel para uso na profilaxia e tratamento da cárie, em crianças, pessoas com mobilidade

reduzida, em pacientes internados nas unidades de terapia intensiva, entre outros. Vale lembrar que a cárie dentária é um problema de saúde pública, embora a infecção pelo principal agente etiológico possa ser controlada.

O presente estudo foi organizado em quatro capítulos como forma de contemplar os vários aspectos da ação antimicrobiana dos extratos de *A. occidentale* L. O primeiro capítulo se refere à revisão bibliográfica, considerando as propriedades antimicrobianas de *Anacardium occidentale*, no período entre 1980 e 2011; no segundo capítulo investigamos a atividade antimicrobiana do extrato das folhas, cascas e flores; no terceiro capítulo avaliamos o potencial anticárie do extrato das flores e de suas frações, considerando a ação sobre células planctônicas e sobre o biofilme e no quarto capítulo constam algumas informações sobre o pedido e registro de patente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A. occidentale L., popularmente conhecida como cajueiro, é uma espécie nativa do Brasil, com ampla distribuição na região nordeste do país (CORREIA et al., 2006; CHAVES et al., 2010), incluindo o Estado do Maranhão, em especial, nas regiões dos chapadões, cocais, baixada, pré-amazônia maranhense e litorânea (PINHEIRO et al., 2011).

2.1. Taxonomia de *Anacardium occidentale* L. (VIRBOGA, 2005)

Reino: Plantae

Divisão: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordem: Sapindales

Família: Anacardiaceae

Gênero: *Anacardium*

Espécie: *Anacardium occidentale*

2.2. Características botânicas de *Anacardium occidentale* L.

Há dois tipos de *Anacardium occidentale*, o chamado cajueiro comum e o cajueiro-anão-precoce (PAIVA et al., 2003). O cajueiro comum é uma árvore de aparência exótica, com copa baixa e altura entre 5 e 10 m. O caule, às vezes, um pouco reto e alto, porém geralmente, é tortuoso e baixo, conforme a natureza do terreno; apresenta ramos contorcidos. As folhas são simples, inteiras, oblongas, alternas, pecioladas, obtusas, subconvexas, onduladas e glabras. As flores são róseas, pálidas, dispostas em panículas terminais ramificadas, masculinas e hermafroditas e o fruto é reniforme, conectado ao pedúnculo ou pseudofruto comestível (CORRÊA, 1984; MAZZETTO et al., 2009) (Figura 1).

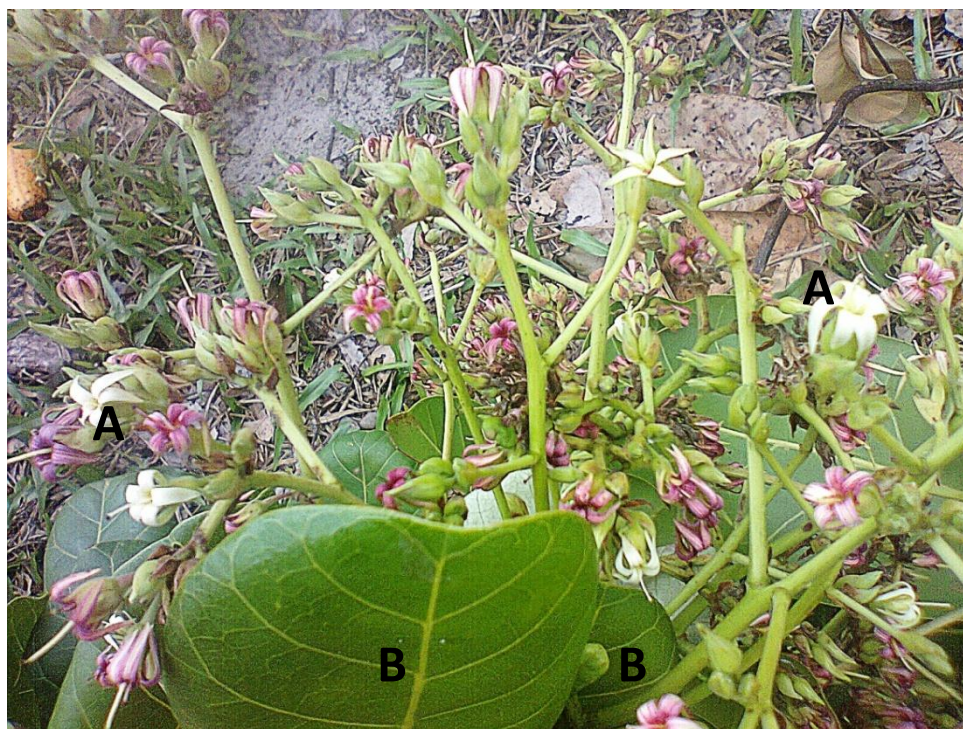


Figura 1: Flores (A) e folhas (B) de *Anacardium occidentale* L.

O nome caju é oriundo da palavra indígena “acaiú” e corresponde ao pseudofruto formado pelo pedúnculo floral superdesenvolvido, onde a castanha está inserida, é a parte carnosa e comestível, quando maduro. O pseudofruto, muito apreciado pela sua suculência, apresenta pele cerosa e coloração que varia de amarelo a vermelho (CRUZ, 1985; LORENZI; MATOS, 2002; ASSUNÇÃO; MERCADANTE, 2003; GARRUTI et al., 2006; MAZZETTO et al., 2009) (Figura 2A).

A castanha de caju, o verdadeiro fruto, é um aquênio de comprimento e largura variável, casca coriácea, mesocarpo alveolado, contendo um líquido escuro, cáustico e inflamável, chamado de líquido da casca da castanha do caju (LCC) ou *cashew nut shell liquid* (CNSL). Na parte mais interna da castanha se localiza a amêndoa, constituída de dois cotilédones carnosos e oleosos, que compõem a parte comestível do fruto, revestida por uma película em tons avermelhados (MAZZETTO et al., 2009). Da amêndoa também pode ser extraído um óleo que pode ser utilizado como substituto do azeite de oliva (GAZZOLA et al., 2006) (Figura 2B).

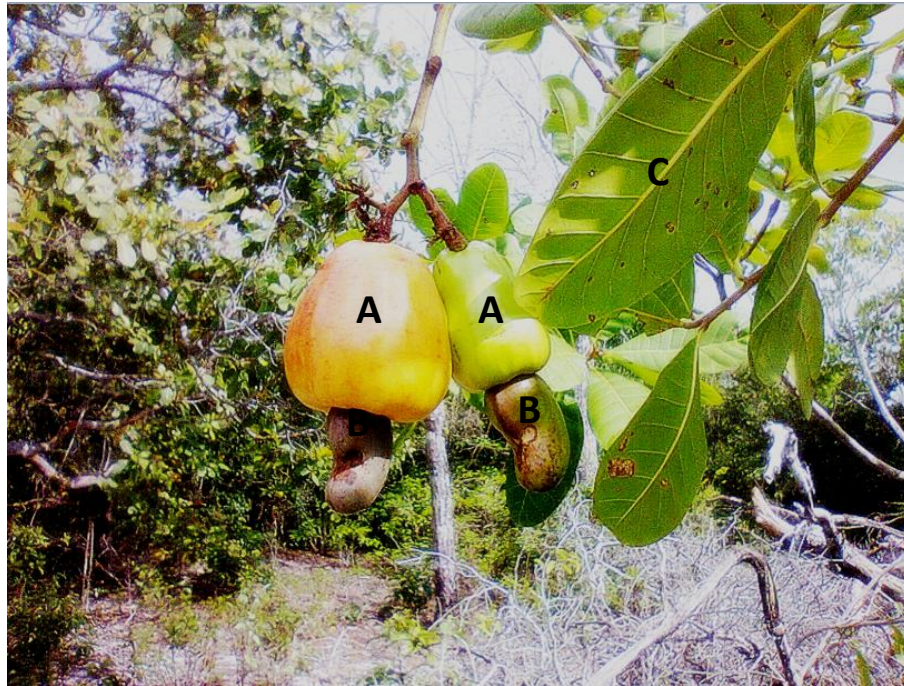


Figura 2: Pseudofruto (A), fruto (B) e folhas (C) de *Anacardium occidentale* L.

A. occidentale também apresenta um exsudato ou goma que consiste de um heteropolissacarídeo acidífero, ramificado, de cor amarelada e solúvel em água. A goma pode fluir naturalmente ou por incisões no tronco e nos ramos da árvore ou devido ao ataque de insetos e micro-organismos (MARQUES et al., 1992, MENESTRINA et al., 1998, PAULA; RODRIGUES, 1995; MACIEL et al., 2005; OFORIK-WAKYE et al. 2010) (Figura 3).



Figura 3: Goma extraída do tronco
(Exsudato de *Anacardium occidentale* L.)

Fonte: <http://www.redetec.org.br/inventabrasil/cajuei.htm>

2.3 Etnofarmacologia de *Anacardium occidentale* L.

Todas as partes do cajueiro são popularmente utilizadas para tratamento de doenças, em decocção, infusão, extratos, entre outras formulações (CORRÊA, 1984, CARTAXO et al., 2010; AISWARYA et al., 2011a).

A casca do cajueiro é utilizada como adstringente, tônico em diversas astenias, estimulante do apetite, abortiva, contraceptiva, antisséptica vaginal e útil para cura de aftas, asma, bronquite, cólica intestinal, debilidade muscular, diabetes, diarreia, disenteria, doenças da pele, esterilidade, febre, hipertensão, inflamações da garganta, leishmaniose, malária, queimadura, sífilis, tosse, úlcera péptica, impotência, problemas genitais entre outras (LEWIS, 1980; CORRÊA, 1984; GILL; AKINWUMI, 1986; BARRETT, 1994; COE; ANDERSON, 1996; LUZ, 2001; BRAGA et al, 2007; RODRIGUES, 2007; MUSA et al., 2010).

As folhas são utilizadas para curar diarreias, estomatites, aftas, bronquite, cólicas intestinais, debilidade muscular, diabetes, doenças venéreas, doenças de pele, dor de dente, estomatites, fraqueza, inflamações, leishmaniose, psoríases, tosse, verrugas, entre outras (CORRÊA, 1984; GILL; AKINWUMI, 1986; CHHABRA et al., 1987; FLORES; RICALDER, 1996; FRANÇA et al. 1996; LUZ, 2001; MOREIRA et al., 2002; BORBA; MACEDO, 2006).

O fruto é considerado tônico-excitante, digestível, afrodisíaco, anti-helmíntico e útil contra calos, debilidade em geral, diarreia, disenteria, dor de dente, eczemas, febre, impotência, lepra, perda de apetite, psoríases, úlceras, verrugas, entre outras (CORRÊA, 1984; BORBA; MACEDO, 2006). As flores, muito visitadas pelas abelhas são tônicas e afrodisíacas (CORRÊA, 1984).

O pseudofruto é empregado como excitante, sudorífero, diurético, depurativo, antissifilítico, cicatrizante, útil contra catarros crônicos, diarreia, dispepsias, icterícia, inflamações, entre outras (CORRÊA, 1984; GIRÓN et al., 1994; LUZ, 2001). A goma do cajueiro é considerada expectorante, útil contra afecções pulmonares e tosses rebeldes (CORREA, 1984). A raiz é considerada purgativa e fortalecedora do útero, útil contra doenças estomacais (CORRÊA, 1984; GIRÓN et al., 1994).

2.4 Atividades biológicas de *Anacardium occidentale* L.

Uma variedade de propriedades biológicas já foi detectada em extratos e compostos isolados das partes aéreas de *A. occidentale*. As atividades descritas bem como as referências a elas relacionadas estão listadas na tabela 1:

Tabela 1 - Principais atividades biológicas da espécie *Anacardium occidentale*

ATIVIDADE	REFERÊNCIAS
Antiacne	(Kubo et al. 1994)
Antidiabética	(Kamtchouing et al., 1998; Ojewole, 2003; Alexander-Lindo et al., 2004; Olatunji et al., 2005; Sokeng et al., 2007; Tedong et al., 2006; 2007; Borges et al., 2008; Silva; Guerra, 2009)
Antigenotóxica	(Barcelos et al., 2007a)
Anti-inflamatória	(Mota et al., 1985; Patil et al., 2003; Olajide et al., 2004; Vanderlinde et al., 2009)
Anti-helmíntica	(Aiswarya et al., 2011b)
Antileishmania	(França et al., 1993; Braga et al., 2007)
Antimicrobiana	(Laurens et al., 1982; Kubo et al., 1999; Akinpelu, 2001; Araújo et al., 2005, Dahake et al., 2009)
Antimutagênica	(Barcelos et al., 2007b; Melo-Cavalcante et al., 2003; 2005; 2008).
Antiofídica	Ushanandini et al., 2009)
Antioxidante	(Melo-Cavalcante et al., 2003; Kubo et al., 2006; Rodrigues et al., 2006; Sajilata; Singhal, 2006; Trevisan et al., 2006; Kamath; Rajini, 2007; Broinizi et al., 2007; 2008; Razali et al., 2008; Chaves et al., 2010; Jaiswal et al., 2010, Andrade et al., 2011, Oliveira et al., 2011; Santos, 2011)
Antitumoral	(Kubo et al., 1993a; Florêncio et al., 2007)
Antiulcerogênica	(Konan; Bacchi, 2007)
Antiviral	(Kudi; Myint, 1999; Gonçalves et al., 2005a)
Gastroprotetora	(Moraes et al., 2010)
Inseticida	(Marques et al., 1992; Laurens et al., 1997; Mendonça et al., 2005; Oparaeke; Bunmi, 2006; Farias et al., 2009; Lomonaco et al., 2009; Mukhopadhyay et al., 2010; Oliveira et al., 2011)
Moluscicida	(Sullivan et al., 1982; Casadei et al., 1984; Kubo et al., 1986; Laurens et al., 1987; Souza et al., 1992)

Os estudos quanto às propriedades biológicas de *A. occidentale* têm sido realizados com extratos preparados com o fruto (HIMEJIMA; KUBO, 1991; LIMA et al., 2000; KASEMURA et al., 2002; GAITÁN et al., 2003; KUBO et al., 2003; GONÇALVES et al., 2005b; KANNAN et al., 2009), pseudofruto (MUROI et al., 1993; MUROI; KUBO, 1993; KUBO et al., 1999), folhas (LAURENS et al., 1982; MACKEEN et al., 1997; KUDI et al., 1999; SCHMOURLO et al., 2005;

PEREIRA et al., 2006a; MUSTAPHA; HAFSAT, 2007; DAHAKE et al., 2009), casca (LAURENS et al., 1982; KUDI et al., 1999; AKINPELU, 2001; GONTIJO et al., 2004; ARAÚJO et al., 2005; MELO et al., 2006; PEREIRA et al., 2006b; BRAGA et al., 2007; SANTOS et al., 2007b; SILVA et al., 2007; ANJOS et al., 2009; ARAÚJO et al., 2009; SILVA et al., 2009) e com a goma (exsudato do cajueiro) (MARQUES et al., 1992; TORQUATO et al., 2004). Não foram localizados estudos realizados com as flores.

2.5 Dados físico-químicos das partes de *Anacardium occidentale* L.

Do cajueiro, em geral, casca do caule, folhas, flores, frutos, pseudofruto, goma (exsudato do cajueiro) tem sido isolados diversos compostos químicos.

Dos frutos e pseudofrutos de *A. occidentale* foram isolados compostos fenólicos como os ácidos anacárdicos, cardanóis e cardóis (KUBO et al., 1986; TOYOMIZU et al., 1993; PARAMASHIVAPPA et al., 2001; TREVISAN et al., 2006, SETIANTO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011; ANDRADE et al., 2011) e fitosteróis (ANDRADE et al., 2011).

No líquido da casca da castanha do caju (LCC) foram identificados compostos fenólicos, triterpenoides, óleos voláteis, xantoproteína e carboidratos (KANNAN et al., 2009). Do fruto ainda foram isolados antocianinas e flavonoides glicosilados (BRITO et al., 2007), β -caroteno, luteína, xantina, α -tocoferol, γ -tocoferol, tiamina, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, lipídios, sitosterol, estigmasterol, lupeol, β -amirina, catequina e epicatequina (CHAVES et al., 2010; TROX et al., 2010) e minerais tais como potássio, cálcio, magnésio, sódio, fósforo, zinco e ferro (AKINHANMI et al., 2008).

As características físico-químicas da farinha e do óleo da castanha também foram investigadas. Os valores médios dos parâmetros para a composição centesimal da farinha foram: 6% umidade; 4% cinzas; 37% extrato etéreo; 25% proteína bruta; 1% fibra bruta e 27% de carboidratos. O teor de ácidos graxos foi de 29%, com energia de 2242.8 KJ / 100 g. Em relação a composição em minerais (mg/100g) foram encontrados: Na, K, Ca, Mg, Mn, Cu, Zn, Fe e P. Os parâmetros para o óleo foram: cor amarela; índice de refração 1.465; gravidade específica 0.964; acidez 1 ± 4 mg KOH/g; índice de saponificação $168 \pm 0,3$ mg KOH/g; concentração de iodo $44 \pm 0,1$ mg/iodo/g; índice de peróxido $3 \pm 0,2$ e concentração de ácidos graxos livres $28 \pm 0,1$ mg/g (AREMU et al., 2006).

A análise de aminoácidos revelou que a farinha de castanha de caju contém quantidades nutricionalmente relevantes da maioria dos aminoácidos essenciais (AREMU et al., 2006).

Melo et al. (1998) realizaram a caracterização físico-química da amêndoa da castanha crua e da tostada para identificarem alterações provocadas pelo processo de cozimento. As amêndoas cruas apresentam pH próximo à neutralidade e composição centesimal com os seguintes teores: umidade - 5%, cinzas - 2%, proteínas - 22,11%, lipídios - 46,28%, açúcares totais - 7,93 % e amido - 16,07%. As tostadas: umidade - 1,18%, cinzas - 2,43%, proteínas - 21,76%, lipídios - 48,35%, açúcares totais - 8,23 % e amido - 17,30%. Observaram diferenças significantes entre os teores de lipídios, açúcares totais e amido, possivelmente devido à perda de água durante o processo de tostagem.

A caracterização dos compostos fenólicos nos pedúnculos de *A. occidentale* detectou a presença de antocianidinas, taninos condensados e ácidos anacárdicos. Entre os flavonoides, a delphinidina foi o composto mais abundante (AGOSTINI-COSTA et al., 2000).

Maciel et al. (1986) identificaram no suco de caju, por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa - CG/EM, compostos voláteis, na maioria ésteres, além de aldeídos, cetonas, ácidos, terpenos e enxofre. Os mesmos compostos voláteis foram detectados nos pseudofrutos de uma variedade de caju (*A. occidentale* L. var. *nanum*). Do pedúnculo do caju foram isolados componentes glicosilados, álcoois conjugados e ácidos cinâmicos, detectados pela primeira vez nesta espécie (BICALHO et al., 2000; BICALHO; REZENDE, 2001). O pedúnculo apresenta em sua composição potássio, enxofre, fósforo, magnésio, silício e alumínio (SANTOS et al., 2007a).

Michodjehoun-Mestres et al. (2009) extraíram fenóis monoméricos de peles e polpas do pseudofruto, de quatro genótipos de cajueiros do Brasil e da África ocidental, que foram purificados e submetidos a análise cromatográfica por HPLC-DAD/ESI-MS. Observaram que as peles dos pseudofrutos são mais ricas em compostos fenólicos simples do que as polpas, com predominância da miricetina e quercetina. As antocianidinas foram detectadas em peles dos dois genótipos pigmentados dos pseudofrutos (vermelho e laranja) como peonidina, petunidina e cianidina 3-O-hexosídes, mas estavam ausentes nas polpas desses pseudofrutos.

A abordagem fitoquímica das folhas detectou a presença de flavonoides, saponinas, compostos fenólicos e óleos essenciais (JORGE et al., 1996). Outros estudos fitoquímicos

detectaram na casca do caule de *A. occidentale* a presença de carboidratos, taninos, fenóis, catequinas, glicosídeos, saponinas, resinas, flavonoides e alcaloides (ABULUDE et al. 2009; ABULUDE et al., 2010; SANTOS, 2011). Nas folhas foram detectados: carboidratos, taninos, fenóis, catequinas, glicosídeos, saponinas, resinas, flavonoides, alcaloides e esteróis (OMOJASOLA et al., 2004; ABULUDE et al. 2009; ABULUDE et al., 2010; SANTOS, 2011).

Óleos essenciais de folhas, pseudofrutos e flores de cajueiro da variedade vermelha e óleos essenciais de pseudofrutos da variedade amarela foram obtidos por hidrodestilação e analisados por cromatografia gasosa associada à espectrometria de massa (CG/EM). Das folhas de cajueiro vermelho foram identificados os constituintes: (e)- β -ocimeno (29%), α -copaeno (14%), e δ -cadinene (9%), do óleo dos pseudofrutos desta variedade foram identificados: ácido palmítico e ácido oleico e nas flores os seguintes compostos: β -cariofileno (26 %), salicilato de metila (13 %) e tiglate benzílico (11%). No óleo do pseudofruto da variedade amarela foram identificados os seguintes compostos: ácido palmítico (11%), furfural (10%), ácido 4-hidroxidodecanoico e lactona (8%), (e)-hex-2-enal (7%), (z)-hex-3-en-1-ol (6%), e 1-hexadecanol (6%) (MAIA et al., 2000).

A goma, exsudato do cajueiro, contém em sua composição açúcares: galactose, arabinose, glicose, raminose, manose, xilose, ácido glucurônico; proteína; minerais: nitrogênio, zinco, níquel, manganês, cobre, ferro, cádmio, potássio, alumínio e silício (PINTO et al. 1995; PAULA; RODRIGUES, 1995; MENESTRINA et al. 1998; GUERRERO et al. 2003; OFORI-KWAKYE et al. 2010; OKOJIE et al. 2010).

Compostos químicos isolados do cajueiro e as referências, a eles relacionados, estão listados na tabela 2.

Tabela 2 – Composição química da casca do caule, folhas, fruto, pseudofruto, flores e goma de *Anacardium occidentale*

Parte da espécie	Compostos isolados	Referências
Casca do caule	Carboidratos, taninos, glicosídeos, saponinas, resinas, flavonoides, alcaloides, fenóis, oxalato, fitalato, cianeto, ferro.	(Laurens et al., 1982; Mota et al., 1985; Abulude et al., 2009, 2010; Okonkwo et al., 2010; Santos et al., 2011)
Folhas	(E)- β -ocimeno, α -copaeno, δ -cadieno, taninos, saponinas, compostos fenólicos, alcaloides, esteroides, glicosídeos, flavonoides, carboidrato, resinas, fenóis.	(Laurens et al., 1982; Maia et al., 2000; Omojasola et al., 2004; Abulude et al., 2009, 2010; Santos et al., 2011)
Fruto	Ácidos anacárdicos, cardol, cardanol, 2-metilcardol, ácidos graxos, aminoácidos, minerais, taninos, triterpenoides, antocianina, flavonóis glicosilados, compostos fenólicos, óleos voláteis, xantoproteína, proteína, carboidrato, β -caroteno, luteína, xantina.	(Kubo et al., 1986; Paramashivappa et al., 2001; Kumar et al., 2002; Edoa et al., 2006; Trevisan et al., 2006; Aremu et al., 2006, 2007; Aletor et al., 2007; Brito et al., 2007; Akinhanmi et al., 2008; Kannan et al., 2009; Setianto et al., 2009; Vicent et al., 2009; Gómez-Caravaca et al., 2010; Trox et al., 2010; Oliveira et al., 2011; Rodrigues et al., 2011)
Pseudofruto	Ácidos anacárdicos, ácido gálico, ácido protocatecoico, ácido cinâmico, ésteres, aldeídos, cetonas, ácidos graxos, lactonas, terpenos, isoprenoides, hidrocarbonetos, carboidratos, taninos, carotenoides, clorofila, pectina, antocianinas, amido, minerais, vitamina C, flavonóis glicosídeos (miricetina, quercetina hexoses, pentosídeos, raminosídeos), antocianidinas glicosídeas (peonidina, petunidina, cianidina-3-o-hexosídes), constituintes voláteis: (ácido palmítico, ácido oleico, furfural, 4- hidroxidodecanoico ácido lactona, (E)-hex-2-enal, (Z) hex-3-enol, hexadecadol).	(Muroi, Kubo, 1993; Bicalho et al., 2000; Maia et al., 2000; Bicalho; Rezende, 2001; Figueiredo et al., 2002; Assunção; Mercadante, 2003; Trevisan et al., 2006; Pereira et al., 2008; Lowor et al., 2009; Michodjehoun-Mestres et al., 2009; Sivagurunathan et al., 2010; Queiroz et al., 2011)
Goma (exsudato)	Açúcares (galactose, arabinose, glicose, raminose, manose xilose, ácido glucurônico), proteínas, minerais.	(Pinto et al., 1995; Paula; Rodrigues, 1995; Menestrina et al., 1998; Guerrero et al., 2003; Ofori-Kwakye et al., 2010; Okojie et al., 2010)
Flores	Constituintes voláteis: β -cariofileno, metilsalicilato, tiglate benzílico.	(Maia et al., 2000)

2.6 Ação de *Anacardium occidentale* sobre micro-organismos associados à cárie dentária

O extrato hidroalcoólico da casca do caule de *A. occidentale* em concentrações variando de 4 a 50 mg/mL tem ação sobre *Streptococcus mutans*, *S. mitis* e *S. sanguis*, bactérias isoladas do biofilme dentário e fortemente relacionadas ao desenvolvimento da cárie (MELO et al., 2006). Adicionalmente, o extrato da casca, em baixas concentrações, inibe a síntese de glucano, em concentrações sub-inibitórias para *S. mutans*, *S. mitis* e *S. sanguis* (PEREIRA et al., 2006b). O extrato da casca apresenta também atividade bactericida para *Lactobacillus casei* (ARAÚJO et al., 2009), mas não tem ação sobre *Candida albicans* (ARAÚJO et al., 2005).

Compostos fenólicos isolados do óleo da casca da castanha do caju (CNSL), bem como os ácidos anacárdicos apresentaram ação antimicrobiana sobre *S. mutans* e *C. albicans*, com resultados potentes (3,13 µg/mL) para *S. mutans* (HIMEJIMA; KUBO, 1991; LIMA et al, 2000). Aparentemente, a atividade antimicrobiana do líquido da castanha do caju sobre *S. mutans* está associada ao grau de insaturação da cadeia alifática substituinte dos núcleos do ácido anacárdico, tendo em vista que a atividade é maior quanto mais insaturada for a cadeia substituinte (GAITÁN et al., 2003).

Os ácidos anacárdicos (C_{15:3}, C_{15:2} e C_{15:1}) isolados do pseudofruto de *A. occidentale*, apresentaram atividade antibiótica sobre *S. mutans* (MUROI; KUBO, 1993). Estes resultados foram confirmados com testes utilizando cinco ácidos anacárdicos naturais (C_{15:3}, C_{12:2}, C_{15:1}, C_{15:0} e C_{17:1}) isolados do fruto e cinco ácidos anacárdicos sintéticos análogos (C_{5:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{12:0} e C_{15:1}) (KUBO et al., 1993b). Os resultados comprovaram a ação dos ácidos não só sobre *S. mutans*, mas também sobre *Staphylococcus aureus* metilino-resistentes (MRSA) (KUBO et al., 2003).

Em conjunto, os dados mostram importante efeito antimicrobiano de extratos e compostos isolados das partes aéreas de *A. occidentale* sobre patógenos orais, indicando a presença de compostos passíveis de utilização na geração de bioprodutos com ação antibacteriana e antifúngica.

2.7 Considerações sobre a cárie dentária

A cárie é uma doença infecto-contagiosa crônica, de caráter multifatorial (WEYNE, 1989; GRANATH et al., 1992; FUJIWARA, 2005; LEITES et al., 2006). É caracterizada pela desmineralização e desintegração progressiva dos tecidos calcificados dos dentes, por ácidos

orgânicos, devido à presença de bactérias que fermentam carboidratos da dieta e produzem ácidos capazes de destruir a estrutura dentária (HARDIE, 1992; POULSEN et al., 1992; OLIVEIRA, 1996; LEITES et al., 2006; SIXOU et al., 2007). A cárie, importante problema de saúde pública no Brasil (BRASIL, 2007), é causada pela associação de pelo menos três fatores primários: o hospedeiro, a microbiota e a dieta (KEYS, 1960) acrescidos do tempo de contato (FERNANDES; GUEDES-PINTO, 1995; MOIMAZ et al., 2002).

A patogênese da cárie dental pode envolver três processos distintos: (1) aderência da bactéria ao dente; (2) formação de glicocálice devido à síntese de um glucano, pela ação da enzima glicosiltransferase, a partir da sacarose e; (3) acumulação do biofilme (placa) com produção contínua de ácidos pelas bactérias *S. mutans* e *Lactobacillus* sp. (HAMILTON-MILLER, 2001).

A placa dental é um biofilme típico considerado como um dos principais agentes etiológicos da cárie dentária e da doença periodontal, devido à presença de micro-organismos e seus produtos tais como glucanos adesivos (LOESCHE, 1986; BOWDEN, 1990; PEREIRA, 1999; MORGAN et al., 2001; GEBRAN; GEBERT, 2002; FUJIWARA, 2005; MARCH, 2006; SIXOU et al., 2007; HIMRATUL-AZNITA; ZAINAL-ABIDIN, 2008; KHULLER, 2009).

Biofilme é a definição de uma comunidade estruturada de microcolônias de células microbianas envolvidas em uma matriz extracelular de polissacarídeos, aderida a um substrato sólido úmido ou meio líquido, do qual elas podem retirar seus nutrientes (COSTERTON et al., 1999; PORTERA, 1999; WIMPENNY et al., 2000).

O biofilme produz uma grande quantidade de ácido lático, a partir de carboidratos fermentáveis ou a partir de sua acumulação na placa. Todos os açúcares da dieta (sacarose, glicose, frutose e lactose) são utilizados no metabolismo energético da placa bacteriana e o amido é usado, após seu desdobramento até maltose, pelas amilases salivares e bacterianas. Como consequência ocorre a produção de ácidos e a redução do pH. Esses ácidos desmineralizam o esmalte dentário. Por outro lado, em presença de pH neutro a placa desprovida de carboidratos permanece em repouso, ou mesmo em período de remineralização da superfície dentária. Se a produção de ácidos torna-se muito frequente ou tem duração demasiadamente longa, em comparação com os períodos de remineralização, o produto final é uma lesão cariosa (FUJIWARA, 2005).

As principais bactérias encontradas no biofilme supragengival são: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus*

salivarius, *Lactobacillus acidophilus* e *Actinomyces* sp. Interações específicas têm sido descritas entre estas bactérias (SIXOU et al., 2007). A mais virulenta é *Streptococcus mutans*, considerada como iniciadora da doença cárie (O'TOOLE et al., 2000; TANZER et al., 2001).

Streptococcus mutans são cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, microaerófilos, acidogênicos e acidúricos capazes de formar polissacarídeos extracelulares (JORGE, 1998; UZEDA, 2002; LEITES et al., 2006; NEGRINI et al., 2009). *Streptococcus mutans* é o principal agente etiológico da cárie dental devido sua capacidade de acumular, produzir e tolerar pH extremamente baixo no biofilme dental. A síntese de glucanos insolúveis em água é necessária para acumulação de *Streptococcus mutans* sobre a superfície dentária. Esses glucanos são sintetizados a partir da sacarose pela ação da glicosiltransferase (SMITH et al., 1997).

Outros micro-organismos como *Actinomyces viscosus* e *Lactobacillus casei* também são capazes de fermentar açúcares e estão frequentemente associados à cárie em humanos. Dessa forma, a patogênese da cárie inclui o estabelecimento de bactérias indutoras de cáries na superfície dos dentes, além da formação de uma placa acidogênica (POULSEN et al., 1992) e por isso *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp. são considerados como os principais agentes da microbiota cariogênica.

O aumento da frequência do consumo de sacarose, a redução do fluxo salivar e a presença de áreas de estagnação favorecem a infecção por *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus*. Uma baixa velocidade de fluxo salivar é geralmente acompanhada por um número aumentado de *Streptococcus mutans* (1 milhão/mL de saliva) e *Lactobacillus* (100 mil/mL de saliva) (WEYNE, 1986; LEITES et al., 2006).

Lactobacillus são considerados oportunistas no desenvolvimento da cárie dental pela produção de ácido láctico e polissacarídeos extracelulares (LOESCHE, 1986, TANZER et al., 2001). São bastonetes Gram-positivos, anaeróbios facultativos e às vezes microaerófilos (LEITE et al., 2006). Suas principais características cariogênicas são a capacidade acidogênica e acidúrica, além de sua capacidade de realizar tanto o metabolismo oxidativo como fermentativo. As espécies *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, são *homofermentativas*, produzem ácido láctico. *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. buchneri* e *L. cellobiosus* são *heterofermentativos*, produzem vários ácidos orgânicos como o ácido acético e o ácido láctico, além do etanol e dióxido de carbono (TANNOCK, 1999; UZEDA, 2002). Entre

as bactérias orais, *Lactobacillus*, principalmente os homofermentativos, produzem a mais acentuada queda do pH em presença de carboidratos (HOUTE, 1980).

As espécies de *Lactobacillus* mais frequentemente isoladas da cavidade oral são *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. crispatus*, *L. grasseri*. *Lactobacillus* são colonizadores secundários de cavidades de cárie. A falta de aderência às superfícies lisas explica sua localização preferencial nos sulcos e fissuras das superfícies dos dentes (SIXOU et al., 2007).

Candida albicans é outro agente importante nas infecções da cavidade oral, local onde também apresenta uma elevada prevalência (STENDERUP, 1990; SAMARANAYAKE, 1992; O'SULLIVAN et al., 2000). Este fungo é um micro-organismo saprófita que, na presença de fatores predisponentes, provoca lesões na mucosa (RAMOS et al., 1999). É a espécie mais frequentemente associada ao biofilme dentário (HENRIQUES et al., 2004; RAMAGE et al., 2005), quer seja associada às espécies bacterianas, quer seja diretamente aderida à superfície (ARENDORF; WALKER, 1980; NIKAWA et al., 1998, 2003; BARBIERE et al., 2007). Estes micro-organismos aderem a hidroxiapatita e podem dissolvê-la em grande extensão, a partir da interação eletrostática (NIKAWA et al., 2003). Assim em associação com *Streptococcus mutans* algumas espécies de *Candida* também estão associadas ao desenvolvimento da cárie (LEGGOTT, 1992; BADARÓ; FREITAS, 1997) e da doença periodontal (JÄRVENSIVU et al., 2004).

2.8 Medidas de prevenção e controle da cárie dentária

Os meios mais eficazes no controle da placa bacteriana são os mecânicos e, entre estes, a escovação, para as superfícies livres e o fio dental para as superfícies interproximais (MACEDO; LACAZ-NETO, 1983; FERNANDES; GUEDES-PINTO, 1995), sendo que a prevenção dessas doenças baseia-se, em grande parte, no efetivo controle da placa bacteriana a partir da higiene diária (COSTA et al., 2001).

Em virtude de dificuldades para remoção mecânica do biofilme dental, alguns agentes antimicrobianos são lançados no mercado com a finalidade de controlar a formação da cárie. Esses agentes são incorporados em vários tipos de formulações dentárias tais como dentifrício, enxágue bucal, goma de mascar, gel e verniz. Entretanto os produtos usados, como coadjuvantes dos artifícios de limpeza, têm mostrado graus variados de sucesso clínico no controle da microbiota cariogênica (EMILSON, 1994; TORRES et al., 2000; KULKARNI; DAMLE, 2003; ZANATA; RÖSING, 2007; TELES; TELES, 2009; FERNANDES et al., 2011).

Ademais, esses agentes químicos podem causar efeitos colaterais adversos (GIORGI; MICHELI, 1992; MORAN et al., 1992; BOWDEN, 1996; ELEY, 1999).

Compostos antimicrobianos tais como, clorexidina, triclosan, timol e cloreto de cetilpiridíneo, têm sido empregados na cariologia, sendo que o gluconato de clorexidina (CHX) é o mais estudado e também o mais eficaz (BOWDEN, 1996; MARTINS et al., 1998; TORRES et al., 2000; GEBRAN; GEBERT, 2002; ZANATA; RÖSING, 2007).

A clorexidina é o agente antiplaca mais conhecido, muito utilizado em odontologia e frequentemente usado como controle positivo em estudos em busca de produtos alternativos no controle da placa supragengival. É uma bisguanidina com amplo espectro antimicrobiano, inibindo bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, fungos e alguns vírus (BOWDEN; EDWARDSSON, 1995; MALTZ, 1996; JONES, 1997).

A clorexidina é um dos agentes mais efetivos no controle da placa bacteriana e sua eficácia decorre da habilidade em se adsorver aos tecidos duros e moles, dos quais é gradualmente eliminada. Adicionalmente, cria na saliva um ambiente bacteriostático por várias horas. Sua ação está relacionada à inibição de enzimas essenciais para o acúmulo microbiano sobre as superfícies dentárias, como a glicosiltransferase e as enzimas metabólicas como a fosfoenolpiruvato e fosfoenoltransferase (MARSH, 1983; MALTZ, 1996), por isso, vem sendo utilizada como substância padrão para a mensuração do potencial antibacteriano de outros agentes (GIORGI; MICHELI, 1992; MORAN, et al., 1992; JONES, 1997; ELEY, 1999; TORRES et al., 2000; ZANATA; RÖSING, 2007; SCHEIE; PETERSEN, 2011).

Apesar da clorexidina ser um antimicrobiano de amplo espectro, sua ação é mais efetiva contra bactérias Gram-positivas do que contra Gram-negativas (EMILSON, 1977; MALTZ, 1996; FISCHER, 1999). Além disso, *Streptococcus mutans* são particularmente sensíveis à sua ação (EMILSON, 1994; FIGUEIREDO et al., 2004).

Quando utilizada por tempo prolongado, a clorexidina pode ocasionar pigmentação e manchas nos dentes e restaurações, formação de cálculo supragengival, queimação na língua e alterações do paladar ou, até mesmo, inflamações gengivais, além da descamação e ferimento na mucosa oral e distúrbios no paladar, o que resulta em restrições quanto à dosagem e ao tempo de aplicação. O seu gosto amargo dificulta a aderência ao tratamento (CARVALHO, 1991; GIORGI; MICHELI, 1992; MORAN et al., 1992; BOWDEN, 1996; MALTZ, 1996; ELEY, 1999; SCHEIE; PETERSEN, 2011).

Embora a clorexidina tenha propriedades antibióticas para bactérias cariogênicas, seu uso como agente anticárie é ainda, segundo TWETMAN (2004), assunto controverso, o que tem levado a busca de novos produtos com ação sobre a microbiota bucal, incluindo o estudo de plantas com atividade antibacteriana que apresentem menos efeitos adversos.

Neste contexto vários extratos vegetais, como mostra a tabela 3, têm sido avaliados quanto ao potencial antimicrobiano para controle da cárie na perspectiva de gerar bioprodutos com efeitos colaterais mínimos e igual eficácia para o controle do biofilme dentário.

Tabela 3- Espécies vegetais com atividade antimicrobiana comprovada sobre micro-organismos cariogênicos

Espécie vegetal	Nome popular	Parte da planta	Método	Micro-organismos sensíveis	Referências
<i>Allium sativum</i>	Alho	Pele do Bulbo	*DAC, DC	<i>Streptococcus mutans</i>	Fani et al. (2007)
<i>Anacardium occidentale</i>	Cajueiro	Casca do Caule	DA	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus sanguis</i>	Pereira et al. (2006b)
<i>Aristolochia cymbifera</i>	Milhomem	Rizoma	DA,DC	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Alviano et al. (2008)
<i>Artemisia iwayomogi</i>	Dowijigi, Haninjin	Óleo essencial	DC	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> <i>Streptococcus sanguis</i>	Cha, (2007)
<i>Baphia nittida</i>	Sândalo africano	Folhas	DAP	<i>Streptococcus mutans</i>	Amadi et al. (2007)
<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Vassourinha	Óleo essencial	DAC	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>Streptococcus sanguis</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Ferronato et al. (2007)
<i>Caesalpinia pyramidalis</i>	Catingueira	Folhas	DA,DC	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Alviano et al. (2008)
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Canela	Óleo essencial	DAP	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Koteswara et al. (2008)
<i>Citrus limon</i>	Limão	Óleo essencial	DAP	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Koteswara et al. (2008)
<i>Cocos nucifera</i>	Coco cravo	Entrecasca	DA,DC	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Alviano et al. (2008)
<i>Cratoxylum formosum</i>	Mempat	Goma	DAD,DC	<i>Streptococcus mutans</i>	Suddhasthira et al. (2006)
<i>Embllica officinalis</i>	Embllica, Amla	Fruto	DAP	<i>Streptococcus mutans</i>	Aneja et al. (2010)
<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalipto	Óleo essencial	DAP	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	Koteswara et al. (2008)

<i>Garcinia mangostana</i>	Mangostão	Pericarpo	DC	<i>Streptococcus mutans</i>	Torrungruang et al. (2007)
<i>Malaleuca alternifolia</i>	Árvore-do-chá	Oleo essencial	MIP	<i>Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Streptococcus sanguis, Streptococcus mitis, Lactobacillus</i> sp.	Hammer et al. (2003)
<i>Mikania genus</i>	Guaco	Folhas	DC	<i>Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus, Streptococcus cricetus</i>	Yatsuda et al. (2005)
<i>Myracrodruon urundeuva</i>	Aroeira do sertão	Casca do Caule	DA	<i>Streptococcus mutans, Streptococcus mitis, Streptococcus sanguis, Streptococcus sobrinus</i>	Alves et al. (2009)
<i>Myrciaria cauliflora</i>	Jabuticaba	Folhas	DAP	<i>Streptococcus mutans, Streptococcus mitis, Streptococcus sanguis, Streptococcus oralis Streptococcus salivarius, Lactobacillus casei</i>	Macedo-Costa et al. (2009)
<i>Myristica fragrans</i>	Noz-moscada, Mosqueira	Semente	DC	<i>Streptococcus mutans</i>	Chung et al. (2006)
<i>Ocimum americanum</i>	Alfavaca, Manjerição branco	Folhas	DAC, DC	<i>Streptococcus mutans, Lactobacillus casei</i>	Thaweboon; Thaweboon, (2009)
<i>Prosopis africana</i>	Kirya, Ayan Pau-carvão	Caule, Raiz	DAP	<i>Streptococcus mutans</i>	Kolapo et al. (2009)
<i>Psoralea corylifolia</i>	Bemchi, Babachi, Bakuci, Babchi	Semente	DC	<i>Streptococcus mutans, Streptococcus salivarius, Streptococcus sanguis, Streptococcus sobrinus, Lactobacillus casei, Lactobacillus acidophilus, Actinomyces viscosus</i>	Katsura et al. (2001)
<i>Psidium cattleianum</i>	Araçá, Araçá vermelho	Folhas	EVSM	<i>Streptococcus mutans</i>	Brighenti et al. (2008)
<i>Psidium guineense</i>	Araçá do campo	Fruto, Folhas	DAP	<i>Streptococcus mutans</i>	González et al. (2005)
<i>Punica granatum</i>	Romã	Casca do Caule	DA, DC	<i>Streptococcus mutans, Streptococcus mitis, Streptococcus sanguis, Streptococcus sobrinus, Lactobacillus casei</i>	Pereira et al. (2005); Pereira et al. (2006c)

<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alecrim	Folhas, Caule	DAP	<i>Streptococcus mutans, Streptococcus mitis, Streptococcus sobrinus, Lactobacillus casei, Streptococcus sanguis</i>	Alves et al. (2008); Silva et al. (2008)
<i>Salvadora pérsica</i>	Árvore de mostarda	Casca do Caule	DAD	<i>Streptococcus mutans</i>	Al-Bayati; Sulaiman, (2008)
<i>Stryphnodendron adstringens</i>	Barbatimão	Casca do Caule	MIP	<i>Streptococcus mutans, Streptococcus mitis, Streptococcus sobrinus, Lactobacillus casei</i>	Soares et al. (2008)
<i>Swartzia polyphylla</i>	Arabá, maracutaca	Compostos isolados do Cerne da espécie	DAD	<i>Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus</i>	Osawa et al. (1992)
<i>Terminalia glaucescens</i>	Yoruba, Anagossitin	Caule, Raiz	DAP	<i>Streptococcus sobrinus</i>	Ogundiya et al. (2008, 2009)
<i>Uncaria tomentosa</i>	Unha-de-gato	Espécie micropulverizada	DA	<i>Streptococcus mutans</i>	Ccahuana-Vasquez et al. (2007)
<i>Ziziphus joazeiro</i>	Juazeiro	Entrecasca	DA	<i>Streptococcus mutans, Lactobacillus casei</i>	Alviano et al. (2008)
<i>Zingiber officinale</i>	Gengibre	Rizoma	DAC	<i>Streptococcus mutans</i>	Grégio et al. (2006)

* DAC: Difusão em agar/técnica do cilindro; DC: Diluição em caldo; DAD: Difusão em agar/técnica do disco; DAP: Difusão em agar/técnica do poço; DA: Diluição em agar; EVSM: Ensaio da viabilidade de *S. mutans*; MIP: Microdiluição em placa.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral: Avaliar o potencial antimicrobiano de *Anacardium occidentale*, com especial enfoque em micro-organismos cariogênicos, visando o desenvolvimento de um bioproduto com ação anticárie.

3.2 Objetivos específicos:

- Organizar a revisão dos artigos publicados acerca da propriedade antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L. - CAPÍTULO I;
- Avaliar a atividade antimicrobiana, o potencial antioxidante e realizar a prospecção química de extratos de partes aéreas de *Anacardium occidentale* L. - CAPÍTULO II;
- Avaliar a composição química e ação anticárie das flores de *Anacardium occidentale* L. - CAPÍTULO III;
- Desenvolver e testar um produto biotecnológico com ação anticárie, tendo como base compostos presentes nas flores de *A. occidentale*— CAPÍTULO IV.

4 CAPÍTULO I

Artigo submetido ao Journal of Ethnopharmacology

Propriedades antimicrobianas de *Anacardium occidentale* L.

Rubenice A. da Silva, Valério Monteiro Neto e Rosane N. M. Guerra

RESUMO

Relevância etnofarmacológica: *Anacardium occidentale* L. (cajueiro), espécie nativa do Brasil, é popularmente utilizada no tratamento de diversas doenças e infecções. **Objetivos:** Investigar publicações relativas à ação antimicrobiana de partes aéreas de *A. occidentale*, entre 1980 a 2011. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados como base de dados: Medline, Lilacs, Scielo, Chemical Abstracts, PubMed, Biological Abstracts, Web of Science e Highwire. A busca utilizou como descritores: *Anacardium occidentale*, atividade antimicrobiana, atividade antibacteriana, atividade antifúngica, atividade antiviral, propriedade farmacológica e caju. Foram encontrados 44 artigos e 3 dissertações versando sobre a propriedade antimicrobiana de *A. occidentale*. **Resultados:** A maioria dos estudos utilizou material vegetal do Brasil (64%). Os extratos da casca do caule (30%) e das folhas (23%) foram os mais estudados, seguidos de compostos isolados do fruto e pseudofruto (19%) e do uso combinado de folhas e casca (13%). Os extratos do fruto foram avaliados em 4% das publicações, assim como do pseudofruto (4%) e goma do cajueiro (4%). Em 2% das publicações foi avaliado o uso combinado do fruto e folhas. Nenhum artigo avaliou o potencial antibiótico das flores. Em 68% dos artigos foi avaliada a ação do cajueiro sobre *Staphylococcus aureus*, incluindo as amostras metilino-resistentes (MRSA); 60% dos estudos avaliaram a ação sobre *Escherichia coli*, 43 % sobre *Pseudomonas aeruginosa* e 26% sobre *Streptococcus mutans*. A ação sobre *Candida albicans* foi avaliada em 23% dos trabalhos. O método de estudo mais utilizado foi difusão em agar. **Conclusões:** A literatura tem mostrado que extratos de várias partes aéreas de *Anacardium occidentale*, ou compostos isolados, testados por diferentes métodos e concentrações, apresentaram atividade antimicrobiana, embora em 4 % dos trabalhos a atividade antimicrobiana não tenha sido detectada. Como a maioria dos estudos foi *in vitro*, concluímos que são necessários estudos pré-clínicos e clínicos, considerando a atividade antimicrobiana e por isso, o potencial biotecnológico de *Anacardium occidentale* na geração de antibióticos voltados, sobretudo aos micro-organismos resistentes aos antibióticos existentes no mercado.

Palavras chaves: *Anacardium occidentale*, Atividade antimicrobiana, Atividade antibacteriana, Atividade antifúngica, Caju, Cárie.

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: *Anacardium occidentale* L. (cashew tree), a native Brazilian specie, has been traditionally used for the treatment of different diseases and infections. **Purposes:** Aiming the objective of prospecting plant products with anticaries activity, it was investigated the published information concerning the antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* activity, between 1980 and 2011. **Materials and Methods:** The Medline, Lilacs, Scielo, Chemical Abstracts, PubMed, Biological Abstracts, Web of Science, and Highwire databases were searched using *Anacardium occidentale*, antimicrobial activity, antibacterial activity, antifungal activity, antiviral activity cashew, and pharmacological activity as keywords. Forty-four articles and three master theses on the antimicrobial properties of *A. occidentale* were retrieved. **Results:** Most studies used plant material from Brazil (64%). Stem bark (30%) and leaf (23%) extracts were the most frequently investigated, followed by compounds isolated from the fruit and pseudo-fruit (19%) and combined used of stem bark and leaves (13%) and cashew gum (4%). Extracts of the fruit were evaluated in 4% of the studies and combined used of leaves and fruit were evaluated in 2%. None of the studies evaluated the antibiotic potential of flowers. Activity against *Staphylococcus aureus* (including methicillin-resistant strains) was most frequently evaluated (68% of the studies), followed by activity against *Escherichia coli* (60%), *Pseudomonas aeruginosa* (43%), and *Streptococcus mutans* (26%). Activity against *Candida albicans* was evaluated in 23% of the studies investigated. **Conclusions:** The literature review demonstrated the antimicrobial activity of *A. occidentale* extracts obtained from various aerial parts of the plant or of isolated compounds tested by different methods and at different concentrations. No activity was reported in 4% of the studies. The fact that most articles were *in vitro* studies indicate the need for preclinical and clinical trials considering the biotechnological potential of *A. occidentale* for the production of substances effective in the control of microorganisms that are resistant to commercially available antibiotics.

Key words: *Anacardium occidentale*, Antimicrobial activity, Antibacterial activity, Antifungal activity, Cashew, Caries.

1 INTRODUÇÃO

Anacardium occidentale L., família Anacardiaceae, tem se destacado entre as diversas espécies vegetais utilizadas popularmente devido às suas propriedades terapêuticas. Essa espécie é facilmente encontrada na faixa litorânea dos estados da região norte e nordeste do Brasil, onde é popularmente conhecida como cajueiro (Maia et al., 2000; Assunção; Mercadante, 2003; Abulude et al., 2010). É uma árvore de aparência exótica, troncos tortuosos, folhas glabras, flores masculinas e hermafroditas e fruto reniforme (Mazzetto et al., 2009).

Embora a espécie seja considerada nativa do Brasil é também cultivada em outros países da América tropical, do México ao Peru, e, ainda, Índia, Sri Lanka, Malásia, Vietnam, Nigéria, Quênia, Tanzânia, Ivory, Moçambique e Bênin (Maia et al., 2000; Assunção; Mercadante, 2003; Ojewole, 2003; Trevisan et al., 2006; Mazzetto et al., 2009; Michodjehoun-Mestres et al., 2009).

O cultivo do caju é de grande importância socioeconômica para a região nordeste do Brasil, devido ao grande número de empregos, renda, impostos e divisas para o País (Lima et al., 1999; Agostini-Costa et al., 2004).

A castanha, o verdadeiro fruto do cajueiro, é o principal produto de exportação e exploração. Além da castanha, esta espécie também produz um importante produto, o pseudofruto onde a castanha está conectada. O pseudofruto, popularmente conhecido como caju, é muito utilizado na preparação de sucos, doces caseiros e industrializados (Maciel et al., 1986; Muroi; Kubo 1993; Assunção; Mercadante, 2003; Garruti et al., 2006).

A. occidentale também apresenta um exsudato ou goma que consiste de um heteropolissacarídeo acidífero, ramificado, baixa viscosidade, cor amarelada e solúvel em água, muito utilizado nas indústrias de polímeros, cosméticos e farmacêuticas (Marques et al., 1992, Paula; Rodrigues, 1995; Menestrina et al., 1998; Maciel et al., 2005; Oforik-Wakye et al., 2010).

Uma variedade de propriedades farmacológicas é atribuída à espécie *A. occidentale*. Há estudos que atestam sua atividade antianêmica (Kubo et al. 1994a), antidiabética (Kamtchouing et al., 1998; Ojewole, 2003; Alexander-Lindo et al., 2004; Olatunji et al., 2005; Tedong et al., 2006; Sokeng et al., 2007; Tedong et al., 2007), antígeno-tóxica (Barcelos et al., 2007a), anti-inflamatória (Mota et al., 1985; Patil et al., 2003; Olajide et al., 2004, Vanderlinde et al., 2009), inseticida (Marques et al., 1992; Laurens et al., 1997; Mendonça et

al., 2005; Oparaeke; Bunmi, 2006; Farias et al., 2009; Lomonaco et al., 2009; Mukhopadhyay et al., 2010, Oliveira et al., 2011), anti-helmíntica (Aiswarya et al., 2011a), antileishmania (França et al., 1993; Braga et al., 2007), antimutagênica (Melo-Cavalcante et al., 2003; Melo-Cavalcante et al., 2005; Barcelos et al., 2007b; Melo-Cavalcante et al., 2008), antiofídica (Ushanandini et al., 2009), antioxidante (Melo-Cavalcante et al., 2003; Kubo et al., 2006; Trevisan et al., 2006; Kamath; Rajini, 2007; Razali et al., 2008; Chaves, et al., 2010; Jaiswal et al., 2010; Santos, 2011), antitumoral (Kubo et al., 1993a), antiulcerogênica (Konan; Bacchi, 2007), antiviral (Kudi; Myint, 1999; Gonçalves et al., 2005a), gastroprotetora (Moraes et al., 2010), antibacteriana (Toyomizu et al., 1993; Kubo et al., 1994b; Bouttier et al., 2002; Kasemura et al., 2002), inibidora da lipoxigenase (Shobha et al., 1994; Ha; Kubo, 2005; Kubo et al., 2008), moluscicida (Sullivan et al., 1982; Casadei et al., 1984; Kubo et al., 1986; Laurens et al., 1987), entre outras, incluindo a atividade antimicrobiana, objeto deste estudo, considerando o crescente acúmulo de informações pertinentes à sua ação inibitória sobre diferentes micro-organismos e o seu potencial biotecnológico para geração de insumos a serem utilizados no controle de doenças infecciosas.

2 MÉTODOS

Este estudo analisou os artigos publicados sobre atividade antimicrobiana de extratos e compostos derivados de diferentes partes de *A. occidentale*, considerando as publicações em inglês, português, francês e espanhol, incluídas nas seguintes bases de dados: Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Medline, Web of Science, PubMed, Highwire, Scielo e Lilacs, no período entre 1980 e 2011. Foram utilizados como descritores: *Anacardium occidentale*, atividade antimicrobiana, atividade antibacteriana, atividade antifúngica, atividade antiviral, propriedade farmacológica e caju.

Ao final do levantamento quarenta e quatro artigos e três dissertações descreveram a ação dos extratos ou de compostos obtidos das partes aéreas de *Anacardium occidentale* sobre diversos micro-organismos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Anacardium occidentale, é espécie considerada medicinal devido às várias propriedades farmacológicas já identificadas (Gonçalves et al., 2005a; Braga et al., 2007;

Sokeng et al., 2007; Melo-Cavalcante et al., 2008; Vanderlinde et al., 2009; Chaves, et al., 2010; Aiswarya et al., 2011a).

O presente trabalho reuniu resultados publicados acerca do efeito antimicrobiano de extratos das partes aéreas e de produtos derivados de *Anacardium occidentale* sobre diferentes micro-organismos. A atividade antimicrobiana do *Anacardium occidentale* foi avaliada com casca do caule, folhas, fruto, pseudofruto e com a goma que é o exsudato do cajueiro. Os principais resultados estão sumarizados na tabela 1.

Os estudos da atividade antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L. utilizaram, majoritariamente, material botânico proveniente do Brasil (64%), mesmo quando os autores eram estrangeiros, mostrando que o estudo das propriedades antibióticas de *A. occidentale* tem ampla repercussão mundial, possivelmente devido a sua potente atividade antibiótica contra micro-organismos resistentes às drogas comerciais.

As partes de *Anacardium occidentale* mais testadas foram casca do caule, em 30% dos artigos, seguido de folhas em 23% e de compostos isolados do fruto e pseudofruto em 19%. O uso simultâneo de extratos de folhas e casca do caule foi encontrado em 13% dos artigos e do fruto e folhas em 2%. Percentuais semelhantes de artigos avaliaram a ação antimicrobiana do fruto (4%), pseudofruto (4%) e goma do cajueiro (4%).

A ação antimicrobiana de extratos e compostos obtidos das partes aéreas foi avaliada majoritariamente (68%) sobre as bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus*, incluindo a linhagem meticilino-resistente (MRSA). Os resultados foram positivos quanto à inibição em 88% das publicações. Também foi frequente a avaliação da ação de *Anacardium occidentale* sobre *Streptococcus mutans* (26%). Como em todas as publicações a ação antimicrobiana foi efetiva contra *Streptococcus mutans*, esta espécie foi considerada como a bactéria Gram-positiva mais sensível a ação de *A. occidentale*.

O efeito sobre *Escherichia coli* foi avaliado em 60% dos artigos, sendo esta a espécie Gram-negativa mais frequentemente avaliada e também a mais resistente à ação dos extratos, pois em 39% dos artigos os resultados foram negativos.

Já a ação de *A. occidentale* sobre *Pseudomonas aeruginosa* foi avaliada em 43% das publicações, sendo que deste percentual 70% dos artigos relatou ação antimicrobiana efetiva.

A ação sobre fungos, foi mais frequentemente avaliada em culturas planctônicas de *Candida albicans* (23%). Do total das publicações que relataram ação antifúngica, somente 54% apresentaram resultados positivos.

Os trabalhos realizados por Gontijo et al. (2004) que testaram a casca do caule, Satish et al. (2008) que testaram folhas de *A. occidentale* não detectaram ação antimicrobiana, se contrapondo aos relatos dos demais autores.

3.1 Ação antimicrobiana da casca do caule

Akinpelu (2001) observou que extrato metanólico de casca do caule de *Anacardium occidentale* (20 mg/mL) apresentou largo espectro de atividade antibacteriana, pois inibiu o crescimento de: *Bacillus cereus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes*, *Corynebacterium pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus luteus*, *Proteus vulgares*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Shigella dysenteriae*, *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. Entretanto não apresentou atividade sobre *Escherichia coli* e *Candida albicans*.

Segundo Vargas Neto (2004) o extrato alcoólico da casca foi eficaz em inibir o crescimento de amostras de *C. albicans* e de *C. tropicalis*, mas não inibiu o crescimento da *Candida parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei* e *Candida kefyr*. Em contraposição Araújo et al. (2005) mostraram ação antifúngica de extrato da casca do caule sobre *Candida tropicalis* e *Candida stellatoidea* com concentração inibitória mínima (CIM) de 12,5 mg/mL e, nenhum efeito contra *C. albicans* e *C. krusei*. Da mesma forma, Braga et al. (2007) mostraram que apesar do extrato da casca ter atividade sobre *Cryptococcus neoformans*, concentração inibitória mínima de 0,625 mg/mL, também não teve ação sobre *C. albicans*.

Em relação aos micro-organismos associados à cárie foi detectado que o extrato hidroalcoólico da casca do caule de *A. occidentale* (4 a 50 mg/mL), tem ação sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus sanguis*, isoladas do biofilme dentário e formadoras da placa supragengival (Melo et al., 2006). Segundo Pereira et al. (2006a) o ação antimicrobiana está associada a capacidade do extrato em inibir a síntese de glucano. O extrato da casca também tem atividade bactericida sobre *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus casei* (Araújo et al., 2009). Estes resultados sugerem que *A. occidentale* pode ser usado no controle e prevenção da cárie dentária.

Segundo Cavalcante (2010) os extratos da casca do caule de *A. occidentale* foi efetivo em inibir o crescimento das colônias de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175 e ATCC 700610), *Streptococcus oralis* (ATCC 10557), *Streptococcus salivarius* (ATCC 7073) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538). Além disso, os decotos da casca também apresentaram atividade antibacteriana sobre todas as bactérias ensaiadas com concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima maior do que 400 mg/mL. Entretanto quando os decotos foram testados por difusão em agar usando discos, os resultados foram nulos para todas as bactérias ensaiadas.

Quanto a micro-organismos resistentes aos antibióticos comerciais foi observado que o extrato hidroalcoólico da casca de caule de *A. occidentale* apresentou ação antimicrobiana sobre cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes e sensíveis à meticilina. A atividade foi detectada tanto para cepa padrão como para amostras hospitalares de origem humana (Silva et al., 2007). Efeito semelhante foi descrito em relação ao extrato metanólico que apresentou ação antimicrobiana para *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Anjos et al., 2009) além de ter efeitos sobre *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* e *Klebsiella* sp. (Silva et al., 2009).

Os resultados obtidos por Musa et al. (2011) mostraram que os extratos aquoso e etanólico foram efetivos contra *Escherichia coli* e *Salmonella typhi*, mas ineficaz contra *S. aureus*. Por outro lado, o extrato clorofórmico foi efetivo contra *Staphylococcus aureus* e ineficaz contra *Escherichia coli*, indicando que a presença de compostos com polaridades distintas resulta também em atividade antimicrobiana diferenciada para as várias espécies bacteriana.

Em contraposição a vários autores que mostraram o potencial antibiótico da casca do caule de *A. occidentale*, Gontijo et al. (2004) mostraram que o extrato não apresentou efeito inibidor sobre *Listeria monocytogenes*. Dados corroborados por Santos et al. (2007) ao avaliarem o efeito do extrato da casca sobre *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus* sp., *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, com fraca ação antimicrobiana apenas sobre *Candida guilliermondii*.

3.2 Ação antimicrobiana das folhas

A atividade antimicrobiana dos extratos éter petróleo, clorofórmico e metanólico de folhas de *A. occidentale* (1 mg/mL) foi testada contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Candida albicans*. O extrato clorofórmico exibiu potente ação antimicrobiana sobre os micro-organismos testados. *S. aureus*, *K. pneumoniae* e *C. albicans* foram os micro-organismos mais sensíveis ao extrato clorofórmico e a concentração inibitória mínima do extrato foi 0,5 mg/mL. O extrato metanólico foi fracionado em parte acetônica solúvel e insolúvel e, ambas as frações apresentaram potente ação antimicrobiana contra os micro-organismos testados no estudo. A concentração inibitória mínima da fração solúvel variou de 0,0625 mg/mL a 0,125 mg/mL nos ensaios contra *S.marcescens*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*, *S. aureus* e *B. subtilis*, *E. coli*, *K. pneumonia*, *S. aureus* e *S.marcescens*. Já o extrato éter petróleo nenhuma atividade antimicrobiana apresentou (Sathawane et al.,1997).

Segundo Mackeen et al. (1997) o extrato metanólico das folhas de *A. occidentale* foi ativo sobre *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus ochraceous* e *Cryptococcus neoformans*, mas não sobre *Escherichia coli*. Resultados negativos também foram descrito por Schmourlo et al. (2005) sobre *Candida albicans* e *Trichophyton rubrum*.

Mais tarde Omojasola; Awe (2004) mostraram efetividade antimicrobiana do extrato aquoso e do etanólico de folhas de *A. occidentale* contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, sendo que o extrato etanólico foi mais ativo do que o aquoso, por conta das concentrações inibitórias mínimas que variaram de 0,05 a 0,10, respectivamente.

A atividade antibiótica de extrato de folhas foi também evidenciada sobre *Escherichia coli* das linhagens LM9; LM10 e LM11 e sobre *Staphylococcus aureus* (LM5), *Enterobacter gergoviae* (LM56) e *S. aureus* ATCC29213 (Pereira et al. 2006b). Outro estudo detectou ainda ação sobre *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger* (Dahake et al., 2009).

Os ensaios *in vitro* realizados com as frações do extrato de folhas em diferentes concentrações (1000 a 5000 µL/mL) mostraram efeito inibidor sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, efeito especialmente observado em presença da fração clorofórmica (Mustapha; Hafsath, 2007).

Satish et al. (2008) mostraram que o extrato aquoso de folhas de *A. occidentale* apresentou atividade antibacteriana sobre *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella boydii*, *Shigella flexneri* e *Staphylococcus aureus*. A concentração inibitória mínima variou 10 a 50 µg/mL. Nenhum efeito do extrato foi evidenciado contra *Citrobacter* sp., *Enterococcus faecalis* e *Shigella sonnei*. Em estudos posteriores, autores mostraram que extrato de folhas de *Anacardium occidentale* não foi eficaz em inibir o crescimento de *Fusarium* sp. (Satish et al., 2009).

Agedah et al. (2010) evidenciaram que o extrato das folhas de *A. occidentale* apresentou ação antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. A bactéria *S. aureus* foi mais sensível ao extrato do que *E. coli*. Segundo os autores essa diferença pode ser atribuída ao fato de que, sendo *S. aureus* uma bactéria Gram-positiva não possui membrana externa em sua parede celular como existe na Gram-negativa *E. coli*. Ainda, para os autores, essa membrana pode, provavelmente, ser responsável pela diferença no grau de sensibilidade desses micro-organismos ao extrato bruto da espécie estudada.

Satish et al. (2010), baseados no conhecimento tradicional, submeteram 48 espécies vegetais a ensaios antibacterianos *in vitro* contra os patógenos humanos *Shigella boydii*, *Shigella flexneri* e *Shigella sonnei*. As concentrações dos extratos variaram de 10 a 50%. Os resultados mostraram que entre as plantas estudadas, os extratos aquosos de folhas de *A. occidentale* apresentaram atividade contra *S. boydii* e *S. flexneri* com concentrações inibitórias mínimas de 750 µg/mL e 600 µg/mL, respectivamente. Nenhuma atividade do extrato foi evidenciada sobre *Shigella sonnei*.

3.3 Ação antimicrobiana das folhas e casca do caule

Os extratos de folhas e de casca do caule de *A. occidentale* apresentaram ação antimicrobiana sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, tais como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Sarcina lutea* e *Serratia marcescens*. Os dois tipos de extratos apresentaram atividade antibacteriana, com concentração inibitória mínima que variou de 3,3 mg/mL a 0,33 mg/mL para o extrato da casca e de 77 mg/mL a 0,77 mL/mL para o de folhas (Laurens et al., 1982). Esses dados de atividade antibacteriana com extratos de folhas e de casca foram confirmados por outros autores, que analisaram também a ação sobre

bactérias consideradas multirresistentes aos antibióticos clássicos, tais como: *Acinetobacter* spp. *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA), *P. aeruginosa*, entre outras bactérias (Kudi et al. 1999).

Abulude et al. (2009) realizaram uma investigação fitoquímica e antimicrobiana de extratos brutos de folhas e casca *A. occidentale*. Em relação à atividade antimicrobiana, o extrato aquoso e o etanólico de folhas e casca exibiram atividade antibacteriana na concentração de 4 mg/disco contra *Staphylococcus albus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae*.

A avaliação da atividade antimicrobiana de extratos aquoso e metanólico de folhas e casca de *A. occidentale* nas concentrações de 16 mg/mL e 32 mg/mL contra *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* e *Candida albicans* foi realizada por Ayepola; Ishola (2009). Os resultados mostraram que o extrato metanólico de folhas inibiu o crescimento de todos os micro-organismos testados na concentração de 32 mg/mL, enquanto que o aquoso na mesma concentração não foi eficaz sobre *S. aureus* e *C. albicans*. O extrato metanólico da casca foi eficaz em inibir o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis* e *K. pneumoniae* na concentração de 32 mg/mL.

Santos (2011) avaliou a atividade antibacteriana de extratos etanólicos de folhas e casca do caule de *A. occidentale*, em diferentes concentrações que variou de 0,3% a 10% sobre *Staphylococcus aureus* (ATCC 12692), *Staphylococcus aureus* M.R (358), *Bacillus cereus* (ATCC 33018), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031) e *Escherichia coli* (ATCC 25922). Os resultados mostraram que as bactérias Gram-positivas: *S. aureus* (ATCC 12692), *S. aureus* M.R (358) e *B. cereus* foram mais sensíveis às concentrações dos extratos da casca do caule e das folhas. As bactérias Gram-negativas *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* foram resistentes à maioria das concentrações dos extratos da casca e folhas, sendo sensíveis somente nas concentrações de 10% e 5%. *E. coli* foi a mais resistente de todas as espécies testadas.

A influência dos raios-gama sobre a atividade antimicrobiana de extratos brutos de *A. occidentale*, rico em taninos foi investigada por Santos et al. (2011a). Os resultados evidenciaram que os extratos de folhas e casca na concentração de 2000 µg/disco foram ativos sobre *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium smegmatis* e *Candida albicans*. *Pseudomonas aeruginosa* foi

sensível ao extrato das folhas. *Escherichia coli* e *Serratia marcescens* não foram sensíveis aos dois tipos de extratos. As exposições a radiação gama causaram modificações físico-químicas nos constituintes fenólicos dos extratos das folhas e casca do cajueiro, aumentando os níveis de taninos e a ação contra *S. aureus*, com zonas de inibição do extrato de casca de $14,33 \pm 0,58$ mm e $22,33 \pm 0,58$ mm e das folhas de $11,33 \pm 0,58$ mm e $19,00 \pm 1,00$ mm.

3.4 Ação antimicrobiana da semente e folhas

Rajashree et al. (2011) observaram que os extratos acetônicos e etanólicos da semente e de folhas inibiram o crescimento de *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e dos fungos fitopatogênicos *Cercospora zae maydis* e *Mycosphaerella berkeleyi*. Neste estudo as bactérias *S. typhi* e *K. pneumoniae* apresentaram resistência tanto para o extrato aquoso das sementes como para o de folhas. Enquanto a resistência de *P. aeruginosa* só foi observada nas culturas com o extrato aquoso da semente. Os fungos fitopatogênicos foram resistentes a todos os extratos testados.

3.5 Ação antimicrobiana do fruto

Estudos com o fruto, realizados por Gonçalves et al. (2005b), mostraram que o extrato hidroalcoólico inibiu o crescimento de isolados clínicos *Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* sp. coagulase (SCoN). Enquanto que algumas bactérias isoladas de focos infecciosos apresentaram resistência ao extrato (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia* spp. e *Pseudomonas aeruginosa*).

Além da atividade antibacteriana, os extratos do fruto também inibiram o crescimento de fungos de origem humana, incluindo: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium* sp. e *Curvalaria* sp. (Kannan et al., 2009). Em conjunto esses dados indicam que o fruto pode apresentar compostos com diferentes espectros de ação antimicrobiana.

3.6 Ação antimicrobiana do pseudofruto

Aiswarya et al. (2011b) avaliaram o potencial antimicrobiano de extratos aquoso e etanólico do pseudofruto de *A. occidentale* na concentração de 1 mg/mL, sobre *Bacillus*

cereus (ATCC 11778) e *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 11298). Os extratos alcoólico e aquoso foram eficazes em inibir o crescimento do *B. cereus* e da *K. pneumoniae* nas concentrações inibitórias mínimas de 0,06 a 0,09 mg/mL.

O estudo sobre a análise da composição das cinzas do bagaço do pedúnculo de caju e sua atividade antifúngica contra espécies de *Fusarium* evidenciou que a solução aquosa das cinzas na concentração de 0,20 mg/mL apresentou efeito inibidor contra *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium lateritium* e nenhum efeito contra *Fusarium decemcellulare* (Santos et al., 2011b).

3.7 Ação antimicrobiana de compostos isolados do fruto e pseudofruto

Os principais compostos fenólicos (ácidos anacárdicos: C_{15:3}, C_{12:2}, C_{15:1}, C_{15:0}, cardanóis: C_{15:3}, C_{12:2}; cardóis: C_{15:3}, C_{12:2}, C_{15:1} e 2-metilcardóis: C_{15:3}, C_{12:2}), isolados do líquido da casca da castanha do caju (LCC) apresentaram ação antimicrobiana sobre *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium ammoniagenes*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*. Entretanto, os mesmos compostos não foram efetivos contra *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis* e *Penicillium chrysogenum* (Himejima; Kubo, 1991).

A atividade antimicrobiana do líquido da casca da castanha do caju (LCC) sobre o *Streptococcus mutans* parece estar relacionada à presença de compostos com núcleos de ácido anacárdico e ao grau de insaturação das cadeias alifáticas, visto que a atividade antimicrobiana é maior quanto mais insaturada for a cadeia substituinte (Gaitán et al., 2003). Ácidos anacárdicos isolados do líquido da casca da castanha do caju apresentaram atividade antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Candida utilis*, com concentração inibitória mínima (CIM) variando de 28,62 a 1.488,06 µg/mL. Estes compostos foram especialmente ativos sobre *S. mutans* (Lima et al., 2000).

Os ensaios realizados com o ácido anacárdico 6-[(8Z)-8-pentadecenil] e ácido salicílico, isolados do líquido da casca da castanha de caju, e dois derivados: (6-[8,9-epoxi pentadecanil] ácido salicílico e 6-[8,9-dihidroxipentadecanil]), foram efetivos em comprovar a ação antimicrobiana sobre *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium ammonigenes*, *Bacillus thuringiensis*, *Propionibacterium acnes* e *Streptococcus mutans* (Kasemura et al., 2002).

Segundo Kubo et al. (2003), os ácidos anacárdicos naturais ($C_{15:3}$, $C_{12:2}$, $C_{15:1}$, $C_{15:0}$ e $C_{17:1}$) isolados do líquido da casca da castanha do caju e cinco ácidos anacárdicos sintéticos análogos ($C_{5:0}$, $C_{8:0}$, $C_{10:0}$, $C_{12:0}$ e $C_{15:1}$) têm potente ação antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e *Streptococcus mutans*. Segundo os autores, todos os ácidos foram mais efetivos contra a MRSA, com variações em relação à concentração bactericida mínima (CBM). Adicionalmente, foi também observado que o ácido $C_{15:3}$ inibiu o consumo de oxigênio por bactérias presentes no trato respiratório humano, tais como *Micrococcus luteus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Kubo et al. (1993b) testaram a atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos isolados do líquido da casca da castanha do caju ($C_{15:3}$, $C_{12:2}$, $C_{15:1}$ e $C_{15:0}$) e análogos sintéticos (C_0 , C_1 , C_5 , C_8 , C_{10} , C_{12} , C_{15} e C_{20}) contra *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium ammoniagenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Propionibacterium acnes*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis*, *Pityrosporum ovale* e *Penicillium chrysogenum*. A concentração utilizada variou de 0,78 a 800 µg/mL. Os ácidos anacárdicos $C_{15:3}$, $C_{12:2}$, $C_{15:1}$ e os análogos sintéticos C_8 , C_{10} e C_{12} , apresentaram atividade antibacteriana sobre as bactérias *B. subtilis*, *B. ammoniagenes*, *S. aureus*, *S. mutans* e *P. acnes*. O ácido C_{10} foi o mais potente contra *Staphylococcus aureus* e o ácido C_{12} apresentou atividade antimicrobiana comparável ao ácido $C_{15:3}$ que segundo os autores, é o ácido anacárdico com atividade antimicrobiana mais potente, especialmente contra bactérias Gram-positivas.

Os ácidos anacárdicos encontrados no fruto do cajueiro também estão presentes no pseudofruto e da mesma forma apresentam ação antimicrobiana contra várias espécies de micro-organismos. Adicionalmente, foi observado que a atividade antibacteriana dos ácidos diminui, na mesma proporção em que há redução no número de cadeias laterais duplas dos ácidos $C_{15:3}$, $C_{15:2}$ e $C_{15:1}$ (Muroi; Kubo, 1993).

Os testes de susceptibilidade antimicrobiana realizados com os ácidos anacárdicos $C_{15:3}$, $C_{15:2}$, $C_{12:0}$, além do ácido (E)-2-hexenal, obtidos do pseudofruto apresentaram atividade antibiótica sobre *Helicobacter pylori* (Kubo et al., 1999), o que pode representar uma alternativa para o tratamento de úlceras, uma vez que esta bactéria está associada a 80% dos casos, em países em desenvolvimento (Castillo-Juárez et al., 2007).

A atividade antimicrobiana de 10 compostos voláteis (Car-3-eno, (E)-2-hexenal; furfural; hexanal; benzaldeído; nonanal; 2 metil-1-pentanol; limoneno; α -terpeno; β -

cariofileno) do pseudofruto de *A. occidentale* foi testada contra 9 bactérias e 5 fungos. Os testes de sensibilidade mostraram que, entre os compostos testados, o (E)-2 hexanal apresentou uma maior atividade inibitória, pois foi ativo contra todos os micro-organismos testados (Muroi et al., 1993).

3.8 Ação antimicrobiana da goma ou exsudato

Estudo com o exsudato do cajueiro, popularmente denominado de goma, resultou na inibição do crescimento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus flavides*, *Aspergillus occhraceus*, *Aspergillus chevaliere*, *Aspergillus candidus*, *Penicillium implicatum*, *Penicillium* sp., *Colleotrichum musae*, *Verticillium* sp., *Bacillus subtilis*, *Colleotrichum musae*, *Verticillum* sp., *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens* e *Staphylococcus aureus* (Marques et al., 1992). Por outro lado, a goma do cajueiro apresentou fraca atividade sobre *Saccharomyces cerevisiae* mesmo em elevadas concentrações (400 a 2000 µg/mL). Resultados negativos ocorreram nas culturas planctônicas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Salmonella choleraesius*, *Listeria monocytogenes*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Lasiodiplodia theobramae* e *Colletotrichum* sp. (Torquato et al., 2004).

A tabela 1 sumariza os dados relativos aos trabalhos avaliados incluindo partes da planta, método de avaliação, espécies de micro-organismos avaliadas e referências, no período entre 1982 e 2011.

Contudo, diante do exposto fica comprovada a atividade antimicrobiana de *Anacardium occidentale*, com variações de eficácia associadas a polaridade dos extratos e/ou frações e aos tipos de micro-organismos testados. De qualquer forma, merece maior atenção a investigação deste potencial, sobretudo em relação as bactérias normalmente resistentes aos antibióticos comerciais, o que torna essa espécie importante insumo na produção de bioprodutos com ação antimicrobiana.

4 CONCLUSÕES

Os dados obtidos mostram a eficácia de extratos de casca do caule, folhas, fruto, pseudofruto e goma (exsudato) bem como de compostos isolados do fruto e do pseudofruto de *A. occidentale* como antimicrobiano indicando que há nas partes desta espécie compostos passíveis de obtenção de bioprodutos com ação antibacteriana e antifúngica.

REFERÊNCIAS

- Abulude, F.O., Ogunkoya, M.O, Akinjagunla, Y.S., 2010. Phytochemical screening of leaves and stem of cashew tree (*Anacardium occidentale*). Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 9, 815-819 .
- Abulude, F.O., Ogunkoya, M.O., Adebote V.T., 2009. Phytochemical and antibacterial investigations of crude extracts of leaves and stem barks of *Anacardium occidentale*. Continental Journal of Biological Sciences 2, 12-16.
- Agedah, C.E., Bawo, D.D.S., Nyananyo, B.L., 2010. Identification of antimicrobial properties of cashew, *Anacardium occidentale* L. (Family Anacardiaceae). Journal of Applied Sciences and Environmental Management 14, 25-27.
- Agostini-Costa, T.S., Jales, K.A., Garruti, D.S., Padillha, V.A., Lima, J.B., Aguiar, M.J., Paiva, J.R., 2004. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. Ciência Rural 34, 1075-1080.
- Aiswarya, G., Reza, K.H., Radhika, G., Rahul, G., Sidhaye, V., 2011a. Study for anthelmintic activity of cashew apple (*Anacardium occidentale*) extract. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research 6, 44-47.
- Aiswarya, G., Reza, K.H., Radhika, G., Farook, S.M., 2011b. Study for antibacterial activity of cashew apple (*Anacardium occidentale*) extracts. Der Pharmacia Lettre 3, 193-200.
- Akinpelu, D.A., 2001. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. Fitoterapia 72, 286-287.
- 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 bark of *Anacardium occidentale* (Cashew). Phytotherapy Research 18, 403-407.
- Anjos, G.C., Felipe, M.B.M.C., Medeiros, S.R.B., Silva, D.R., Maciel, M.A.M. Efeito antibacteriano do extrato metanólico de *Anacardium occidentale*. 2009. Fortaleza-CE – Disponível em <http://sec.s bq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T1625-1.pdf> – acessado em 24/11/2010.
- Araújo, C.R.F. Pereira, M.S.V., Higino, J.S., Pereira, J.V., Martins, A.B., 2005. Atividade antifúngica *in vitro* da casca do *Anacardium occidentale* Linn. sobre leveduras do gênero *Candida*. Arquivos em Odontologia 41, 263-270.

- Araujo, C.R.F. Pereira, J.V., Pereira, M.S.V., Alves, P.M., Higino, J., Martins, A.B, 2009. Concentração mínima bactericida do extrato do cajueiro sobre bactérias do biofilme dental. *Pesquisa Brasileira de Odontopediatria e Clínica Integrada* 9, 187-191.
- Assunção, R.B; Mercadante, A.Z., 2003. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. *Food Chemistry* 81, 495-502.
- Ayepola, O.O., Ishola, R.O., 2009. Evaluation of antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* (Linn.). *Advances in Medicine and Dental Sciences* 3, 1-3.
- Barcelos, G.R.M., Shimabukuro F., Maciel, M.A.M., Cólus, I.M.S., 2007a. Genotoxicity and antigenotoxicity of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in V79 cells. *Toxicology in Vitro* 21, 1468-1475.
- Barcelos, G.R.M., Shimabu, F., Mori, M.P., Maciel, M.A.M., Cólus, I.M.S., 2007b. Evaluation of mutagenicity and antimutagenicity of cashew stem bark methanolic extract *in vitro*. *Journal of Ethnopharmacology* 114, 268-273.
- Bouttier, S., Fourniat, J., Garofalo, C., Gleye, C., Laurens, A., Hocquemiller, R. 2002. β -Lactamase inhibitors from *Anacardium occidentale*. *Pharmaceutical Biology* 40, 231-234.
- Braga, F.G., Bouzada, M.L.M., Fabri, R.L., Matos, M.O., Moreira, F.O., Scio, E., Coimbra, E.S., 2007. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 111, 396-402.
- Casadei, E., Bruheim, S., Latis, T., 1984. Princípios activos da casca de castanha de cajú com acção moluscocida: possível emprego no programa de luta contra a esquistossomose. *Revista Médica de Moçambique* 2, 35-39.
- Castillo-Juárez, I., Rivero-Cruz, F., Celis, H., Romero, I., 2007. Anti-*Helicobacter pylori* activity of anacardic acids from *Amphipterygium adstringens*. *Journal of Ethnopharmacology* 114, 72-77.
- Cavalcante, A.L.F.A. Plantas medicinais e saúde bucal: estudo etnobotânico, atividade antimicrobiana e potencial para interação medicamentosa. 2010. 210f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Paraíba, Paraíba.
- Chaves, M.H., Citó, A.M.G.L., Lopes, J.A.D., Costa, D.A., Oliveira, C.A.A., Costa, A.F. Brito-Júnior, F.E.M., 2010. Total phenolics, antioxidant activity and chemical constituents from extracts of *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 20, 106-112.

- Dahake, A.P., Joshi, V.D., Joshi, A.B., 2009. Antimicrobial screening of different extract of *Anacardium occidentale* Linn. Leaves. International Journal of Chem Tech Research 1, 856-858.
- Farias, D.F. Cavaleiro, M.G., Viana, S.M., De Lima, G.P.G., Da Rocha-Bezerra, L.C.B., Ricardo, N.M.P.S., Carvalho, A.F.U., 2009. Insecticidal action of sodium anacardate from Brazilian cashew nut shell liquid against *Aedes aegypti*. Journal of the American Mosquito Control Association 25, 386-389.
- França, F., Cuba, C.A.C., Moreira, E.A., Miguel, O., Almeida, M., Virgens, M.L., Marsden, P.D., 1993. Avaliação do efeito do extrato de casca de cajueiro branco (*Anacardium occidentale* L.) sobre a infecção por *Leishmania (Viannia) brasiliensis*. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 26, 151-155.
- Gaitán, S., Rico, Y., Medina, R., Segura, R., 2003. Efecto de la temperatura de industrialización de la nuez de marañón en la actividad antibacteriana en *S. mutans* del líquido de la cáscara (LCNM). Revista Colombiana de Química 32, 103-112.
- Garruti, D.S., Franco, M.R.B., Silva, M.A.A.P., Janzantti, N.S., Alves, G.L., 2006. Assessment of aroma impact compounds in a cashew apple-based alcoholic beverage by GC-MS and GC-olfactometry. LWT-Food Science and Technology 39, 372-377.
- Gonçalves, J.L.S., Lopes, R.C., Oliveira, D.B., Costa, S.S., Miranda, M.M.F.S., Romanos, M.T.V., Santos, N.S.O., Wigg, M.D., 2005a. *In vitro* anti-rotavirus activity of some medicinal plants used in Brazil against diarrhea. Journal of Ethnopharmacology 99, 403-407.
- Gonçalves, A.L., Alves Filho, A., Menezes, H., 2005b. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. Arquivos do Instituto Biológico 72, 353-358.
- Gontijo, F.A., Baldassi, L., Bach, E.E., 2004. Efeito do extrato de *Anacardium occidentale* sobre o desenvolvimento de *Listeria monocytogenes*. Arquivos do Instituto Biológico 71, (Supl), 1-749.
- Ha, T.J., Kubo, I., 2005. Lipxygenase inhibitory activity of anacardic acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53, 4350-4354.
- Himejima, M., Kubo, I., 1991. Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry 39, 418-421.

- Jaiswal, Y.S., Tatke, P.A., Gabhe, S.Y., Vaidya, A., 2010. Antioxidant activity of various extracts of leaves of *Anacardium occidentale* (Cashew). Research Journal of Pharmaceutical Biological Chemical Science 4, 112-119.
- Kamath, V., Rajini, P.S., 2007. The efficacy of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. Food Chemistry 103, 428-433.
- 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. Journal of Ethnopharmacology 62, 95-99.
- Kannan, V.R., Sumathi, C.S., Balasubramanian, V., Ramesh, N., 2009. Elementary chemical profiling and antifungal properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) nuts. Botany Research International 2, 253-257.
- Kasemura, K., Nomura, M., Tada, T., Fujihara, Y., Shimomura, K., 2002. Antimicrobial and tyrosinase inhibitory activities of 6-[(8Z)-8-Pentadecenyl] salicylic acid derivatives. Journal of Oleo Science 51, 637-642.
- 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.
- Kubo, I., Komatsu, S., Ochi, M., 1986. Molluscicides from the cashew *Anacardium occidentale* and their large-scale isolation. Journal of Agricultural and Food Chemistry 34, 970-973.
- Kubo, I., Ochi, M., Vieira, P.C., Komatsu, S., 1993a. Antitumor agents from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry 41, 1012-1015.
- Kubo, I., Muroi, H., Kubo A., Himejima, M., 1993b. Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry 41, 1016-1019.
- Kubo, I., Muroi, H., Kubo A., 1994a. Naturally occurring antiacne agents. Journal of Natural Products 57, 9-17.
- Kubo, I., Kinst-Hori, I., Yokokawa, Y., 1994b. Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits. Journal of Natural Products 57, 545-551.
- Kubo, J., Lee, J.R., Kubo, I., 1999. Anti-*Helicobacter pylori* agents from the cashew apple. Journal of Agricultural and Food Chemistry 47, 533-537.

- Kubo, I., Nihei, K., Tsujimoto, K., 2003. Antibacterial action of anacardic against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7624-7628.
- Kubo, I., Masuoka, N., Ha, T.J., Tsujimoto, K., 2006. Antioxidant activity of anacardic acids. *Food Chemistry* 99, 555-562.
- Kubo, I., Ha, T.J., Tsujimoto, K., Tocoli, F.E., Green, I.R., 2008. Evaluation of lipoxygenase inhibitory activity of anacardic acids. *Zeitschrift für Naturforschung* 63 [c] , 539-546.
- Kudi, A.C., Myint, S.H., 1999. Antiviral activity of some Nigerian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 68, 289-294.
- Kudi, A.C., Umoh, J.U., Eduvie, L.O., Gefu, J., 1999. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 67, 225-228.
- Laurens, A., Mboup, S., Giono-Barber, P., Sylla, O., David-Prince, M., 1982. Étude de l'action antibactérienne d'extraits d'*Anacardium occidentale* L. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 40, 143-146.
- Laurens, A., Belot, J., Delorme, C., 1987. Activité molluscicide de l'*Anacardium occidentale* L. (Anacardiacees). *Annales Pharmaceutiques Françaises* 45, 471-473.
- Laurens, A., Fourneau, C., Hocquemiller, R., Cavé, A., Borles, C., Loiseau, P.M., 1997. Antivectorial activities of cashew nut shell extracts from *Anacardium occidentale* L. *Phytotherapy Research* 11, 145-146.
- Lima, J.R Silva, M.A.A.P., Gonçalves, L.A.G., 1999. Caracterização sensorial de amêndoas de castanha-de-caju fritas e salgadas. *Ciências e Tecnologia de Alimentos* 19, 123-126.
- Lima, C.A.A., Pastore, G.M., Lima, D.P.A., 2000. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos clones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 20, 358-362.
- Lomonaco, D., Santiago, G.M.P., Ferreira, Y.S., Arriaga, A.M.C.; Mazzetto, S.E., Mele, G., Vasapollo, G., 2009. Study of tecnical CNSL and its main components as new green larvicides. *Green Chemistry* 11, 31-33.
- Maciel, M.I., Hansen, T.J., Aldinger, S.B., Labows, J.N., 1986. Flavor chemistry of cashew apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34, 923-927.

- Maciel, J.S., Silva, D.A., Paula, H.C.B., de Paula, R.C.M., 2005. Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complex: synthesis and thermal stability. *European Polymer Journal* 41, 2726-2733.
- Mackeen, M.M., Ali, A.M., El-Sharkawy, S.H., Manap, M.Y., Salleh, K.M., Lajis, N.H., Kawazu, K., 1997. Antimicrobial and cytotoxic properties of some Malaysian traditional vegetables (Ulam). *International Journal of Pharmacognosy* 35, 174-178.
- Maia, J.G.S., Andrade, E.H.A., Zoghbi, M.G.B., 2000. Volatile constituents of the leaves, fruits and flowers of cashew (*Anacardium occidentale*). *Journal of Food Composition and Analysis* 13, 227-232.
- Marques, M.R., Albuquerque, L.M.B., Xavier-Filho, J., 1992. Antimicrobial and insecticidal activities of cashew tree gum exudate. *Annals Applied Biology* 121, 371-377.
- Mazzetto, S.E., Lomonaco, D., Mele, G., 2009. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova* 32, 732-741.
- Melo-Cavalcante, A.A., Rubensam, G., Picada, J.N., Silva, E.G., Moreira, F.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.
- Melo-Cavalcante, A.A., Rübensam, G., Erdtmann, B., Brendel, M., Henriques, J.A.P., 2005. Cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice lowers mutagenicity of aflatoxin B1 in *S. typhimurium* TA102. *Genetics and Molecular Biology* 28, 328-333.
- Melo-Cavalcante, A.A., Picada, J.N., Rubensam, G., Henriques, J.A.P., 2008. Antimutagenic activity of cashew apple (*Anacardium occidentale* Sapindales, Anacardiaceae) fresh juice and processed juice (cajuína) against methyl methanesulfonate, 4-nitroquinoline N-oxide and benzo[a]pyrene. *Genetics and Molecular Biology* 31, 759-766.
- Melo, A.F.M., Santos, E.J.V., Souza, L.F.C., Carvalho, A.A.T., Pereira, M.S.V., Higino, J.S., 2006. *In vitro* antimicrobial activity of an extract of *Anacardium occidentale* L. against *Streptococcus* species. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 16, 202-205.
- Mendonça, F.A.C., Silva, K.F.S., Santos, K.K., Ribeiro Júnior, K.A.L., Sant' Ana, A.E.G., 2005. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. *Fitoterapia* 76, 629-636.

- Menestrina, M. J., Iacomini, M., Jones, C., Gorin, P.A.J., 1998. Similarity of monosaccharide, oligosaccharide and polysaccharide in gum exudate of *Anacardium occidentale*. *Phytochemistry* 47, 715–721.
- Michodjehoun-Mestres, L. Souquet, J.M., Fulcrand, H., Bouchut, C., Reynes, M., Brillouet, J.M., 2009. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chemistry* 112, 851–857.
- Morais, T.C., Pinto, N.B., Carvalho, K.M.M.B., Rios, J.B., Ricardo, N.M.P.S., Trevisan, M.T.S., Rao, V.S., Santos, F.A., 2010. Protective effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. *Chemico-biological Interactions* 183, 264-269.
- Mota, M.L.R., Thomas, G., Barbosa Filho, J.M., 1985. Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. *Journal of Ethnopharmacology* 13, 289-300.
- Mukhopadhyay, A.K., Hati, A.K., Tamizharasu, W., Babu, P.S., 2010. Larvicidal properties of cashew nut shell liquid (*Anacardium occidentale* L.) on immature stages of two mosquito species. *Journal of Vector Borne Diseases* 47, 257-260.
- Muroi, H., Kubo, I., 1993. Bactericidal activity of anacardic acids against *Streptococcus mutans* and their potentiation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41, 1780-1783.
- Muroi, H., Kubo, A., Kubo, I., 1993. Antimicrobial activity of cashew apple flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.41, 1106-1109.
- Musa, D. A., Nwodo, F.O.C., Yusulf, G.O., 2011. A comparative study of the antibacterial activity of aqueous ethanol and chloroform extracts of some selected medicinal plants used in Igalaland of Nigeria. *Pelagia Research Library Der Pharmacia Sinica* 2, 222-227.
- Mustapha, Y., Hafsati, S., 2007. Antibacterial activities of *Anacardium occidentale* (L.) leaf extract against some selected bacterial isolates. *International of Journal Pure and Applied Sciences* 1, 40-43.
- Oforik-wakye, K., Asantewaa, Y., Kipo, S. L., 2010. Physicochemical and binding properties of cashew tree gum in metronidazole tablet formulations. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2, 105-109.
- Ojewole, J.A.O., 2003. Laboratory evaluation of the hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* Linn. (Anacardiaceae) stem-bark extracts in rats. *Methods of Finding & in Experimental & Clinical Pharmacology* 25, 199-204.

- Olajide, O.A., Aderogba, M.A., Adedapo, A.D.A., Makinde, J.M., 2004. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on *in vivo* inflammatory models. *Journal of Ethnopharmacology* 95, 139-142.
- 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, M. S. C., Morais, S. M., Magalhães, D. V., Batista, W. P., Vieira, I. G. P., Craveiro, A. A., Menezes, J.E.S.A., Carvalho, A.F.U., Lima, G.P.G., 2011. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. *Acta Tropica* 117, 165-170.
- Omojasola, P.F., Awe, S., 2004. The antibacterial activity of the leaf extracts of *Anacardium occidentale* and *Gossypium hirsutum* against some selected microorganisms. *Bioscience Research Communications* 16, 25-28.
- Oparaeke, A.M., Bunmi, O.J., 2006. Insecticidal potential of cashew (*Anacardium occidentale* L.) for control of the beetle, *Collosobruchus subinnotatus* (Pic.) (Bruchidae) on bambarra-groundnut (*Voandzeia subterranean* L.) verde. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 39, 247-251.
- Patil, M.B., Jalalpure, S.S., Pramod, H.J., Manvi, F.V., 2003. Antiinflammatory activity of the leaves of *Anacardium occidentale* Linn. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 65, 70-72.
- Paula, R.C.M., Rodrigues, J.F., 1995. Composition and rheological properties of cashew gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale*. *Carbohydrate Polymer* 26, 177-181.
- Pereira, J.V., Sampaio, F.C., Pereira, M.S.V., Melo, A.F.M., Higino, J.S., Carvalho, A.A.T., 2006a. *In vitro* antimicrobial activity of an extract from *Anacardium occidentale* Linn. on *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. *Odontologia Clínico-Científica* 5, 137-141.
- Pereira, M.S.V., Rodrigues, O.G., Feijó, F.M., Athayde, A.C.R., Lima, E.Q., Sousa, M.R.Q., 2006b. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no semi-árido paraibano. *Agropecuária Científica no Semi-árido* 2, 37-43.
- Rajashree, R., Robin, G.A.T., Namashivayam, S.K.R., 2011. First report of antimicrobial activity of seed coat extract from *Anacardium occidentale* L. (Cashew nut) on bacteria and phytopathogenic fungi. *Journal of Herbal and Medicinal Plants* 1, 23-35.

- Razali, N., Rasab, R., Junit, S.M., Aziz, A.A., 2008. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots. *Food Chemistry* 111, 38-44.
- Santos, E.B., Slusarz, P.A.A., Kozłowski Junior, V.A., Schwartz, J.P., 2007. Eficácia antimicrobiana de produtos naturais frente a microrganismos causadores da endocardite bacteriana. *Publicatio UEPG Biology Health Sciences* 13, 67-72.
- Santos, F.O. Atividades biológicas de *Anacardium occidentale* (Linn). 2011. 57f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Sistema Agrossilvipastoris no Semi-Árido) - Universidade Federal de Campinas Grande, Paraíba, 2011.
- Santos, G.H.F., Silva, E.B., Silva, B.L., Sena, K.X.F.R., Lima, C.S.A., 2011a. Influence of gamma radiation on the antimicrobial activity of crude extrats of *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae, rich in tannins. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 21, 444-449.
- Santos, R.P., Marinho, M.M., Sá, R.A., Martins, J.L, Teixeira, E.H., Alves, F.C.S., Ramos, V.S.C., Sousa, G.S., Cavada, B.S., Santos, R.P., 2011b. Compositional analysis of cashew (*Anacardium occidentale* L.) peduncle bagasse ash and its in vitro antifungal activity against *Fusarium* species. *Revista Brasileira de Biociências* 9, 200-205.
- Sathawane, P.N., Patel, D.L., Kasture, V.S., Kasture, S.B., Pal, S.C., 1997. Antimicrobial activity of extracts of *Anacardium occidentale*. *Indian Drugs* 34, 459-462.
- Satih, S., Raghavendra, M.P., Raveesha, K.A., 2008. Evaluation of the antibacterial potential of some plants against human pathogenic bactéria. *Advances in Biological Research* 2, 44-48.
- Satih, S., Raghavendra, M.P., Raveesha, K.A., 2009. Antifungal potentiality of some plants extrats against *Fusarium* sp. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 42, 618-625.
- Satih, S., Raghavendra, M.P., Raveesha, K.A., 2010. Screening of plants for antibacterial activity against *Shigella* species. *International Journal of Integrative Biology* 9, 16-20.
- Schmourlo, G., Mendonça-Filho, R.R., Alviano, C.S., Costa, S.S., 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *Journal of Ethnopharmacology* 96, 563-568.
- Shobha, S.V., Ramadoss, C.S., Ravindranath, B., 1994. Inhibition of soybean lipoxygenase-1 by anacardic acids, cardols, and cardonols. *Journal of Natural Products* 57, 1755-1757.
- Silva, J.G., Souza, I.A., Higino, J.S., Siqueira-Júnior, J.P., Pereira, J.V., Pereira, M.S.V., 2007. Antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of *Anacardium occidentale* Linn. Against multi-drug resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 17, 572-577.

- Silva, A.B, Teixeira, L.M, Galdino, R.M.N. Atividade antibacteriana *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale* Linn. Capturado em 24/11/2010 e disponível em <http://eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R0177-1.pdf>.
- Sokeng, S.D., Lontsi, D., Moundipa, P.F., Jatsa, H.B., Watcho, P., Kamtchouing, P., 2007. Hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* L. methanol extract and fractions on streptozotocin-induced diabetic rats. *Global Journal of Pharmacology* 1, 1-5.
- Sullivan, J.T., Richards, C.S., Lloyd, H.A., Krishna, G., 1982. Anacardic acid: molluscicide in cashew nut shell liquid. *Journal of Medicinal Plant Research* 44, 175-177.
- Tedong, L., Dimo, T., Dzeufiet, P.D.D., Asongalem, A.E., Sokeng, D.S., Callard, P., Flejou, J.F., Kamtchouing, P., 2006. Antihyperglycemic and renal protective activities of *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) leaves in streptozotocin induced diabetic rats. *The African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 3, 23-35.
- Tédong, L., Dzeufiet, D.P.D., Dimo, T., Asongalem, A.E., Sokeng, S.N., Flejou, J.F., Callard, P., Kamtchouing, P., 2007. Effet de l'extrait à l'hexane des feuilles d'*Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) sur la fonction de reproduction chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine. *Phytothérapie* 5, 182-193.
- Torquato, D.S., Ferreira, M.L., Sá, G.C., Brito, E.S., Pinto, G.A.S., Azevedo E.H.F., 2004. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 20, 505-507.
- Toyomizu, M., Sugiyama, S., Jin, R.L., Nakatsu, T., 1993. α -Glucosidase and aldose reductase inhibitors: constituents of cashew, *Anacardium occidentale*, nut shell liquids. *Phytotherapy Research* 7, 252-257.
- 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, 188-197.
- Ushanandini, S., Nagaraju, S., Nayaka, S.C., Kumar, K.H., Kemparaju, K., Girish, K.S., 2009. The anti-ophidian properties of *Anacardium occidentale* bark extract. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 31, 607-615.
- Vanderlinde, F.A., Landim, H.F., Costa, E.A., Galdino, P.M., Maciel, M.A.M., Anjos, G.C., Malvar, D.C., Côrtes, W.S., Rocha, F.F., 2009. Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 45, 437-442.

Vargas-Neto, P. Ação antifúngica de plantas medicinais e da própolis frente a leveduras do gênero *Candida*, isoladas da cavidade bucal. 2004. 98f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná, 2004.

Tabela 1 – Atividade antimicrobiana da casca do caule, folhas, fruto, pseudofruto, goma e compostos isolados de *Anacardium occidentale* L.

Parte da espécie	Método	Micro-organismos		Referências
		Inibidos	Não inibidos	
Casca do caule	DAC	<i>Proteus morganii</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Sarcina lutea</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella typhi</i>	-	Laurens et al. (1982)
	DAD	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Enterobacter species</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Acinetobacter species</i> <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (MRSA) <i>Corynebacterium pyogenes</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirresistente	-	Kudi et al. (1999); Abulude et al. (2009)
	DAP	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus stearothermophilus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> , <i>Corynebacterium pyogenes</i> , <i>K.pneumoniae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Proteus vulgares</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Staphylococcus faecalis</i>	<i>E. coli</i> , <i>C. albicans</i>	Akinpelu, (2001)
	DAD	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	Gontijo et al. (2004)
		<i>Candida albicans</i> , <i>Candida tropicalis</i>	<i>C.parapsilosis</i> , <i>C.guilliermondii</i> , <i>C. krusei</i> <i>C. kerfyr</i>	Vargas Neto, (2004)
	DAP	<i>Candida tropicalis</i> , <i>Candida stellatoidea</i>	<i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i>	Araújo et al. (2005)
	DAP	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus sanguis</i>	-	Melo et al. (2006); Pereira et al. (2006a)
	DAP	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>C. albicans</i> .	Braga et al. (2007)
	DAD	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>S. aureus</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Streptococcus</i> sp., <i>Micrococcus luteus</i> , <i>B.</i> <i>cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i>	Santos et al. (2007)
	DAP	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (MRSA)	-	Silva et al. (2007)
	DC	<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus mitis</i> , <i>Streptococcus sanguis</i> , <i>Streptococcus sobrinus</i> , <i>Lactobacillus casei</i>	-	Anjos et al. (2009) ; Araújo et al. (2009)
	DAP	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Candida albicans</i>	Ayepola; Ishola, (2009)

Folhas	DAD, DC	<i>Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Klebsiella sp.</i>	-	Silva et al. (2009)
	DAD, DAP	<i>Strptococcus mutans, Strptococcus salivarius, Streptococcus oralis, Staphylococcus aureus</i>	-	Cavalcante, (2010)
	DAP	<i>Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhi</i>	-	Musa et al. (2011)
	DAP	<i>Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus resistente a meticilina (MRSA), Bacillus cereus</i>	<i>K. pneumoniae, P. aeruginosa, E. coli</i>	Santos, (2011)
	DAD, DA	<i>Staphylococcus aureus, Micrococcus luteus, Bacillus subtilis, Enterococcus faecalis, Mycobacterium smegatis, Candida albicans</i>	<i>E. coli, S. marcescens</i>	Santos et al. (2011a)
	DAC	<i>Proteus morganii, Pseudomonas aeruginosa, Sarcina lútea, Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhi</i>	-	Laurens et al. (1982)
	DAD, DC	<i>Bacillus cereus, Bacillus megaterium, Pseudomonas aeruginosa, Aspergillus occhaceous, Cryptococcus neoformans</i>	<i>E. coli</i>	Mackeen et al. (1997)
	DAC, DC	<i>Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Serratia marcescens, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumonia, Candida albicans</i>	-	Sathawane et al. (1997)
	DAP	<i>Staphylococcus aureus, Enterobacter species, Streptococcus pneumoniae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli Pseudomonas aeruginosa multirresistente</i>	<i>Corynebacterium pyogenes, E. faecalis, Acinetobacter sp., P. aeruginosa</i>	Kudi et al. (1999)
	DAP, DC	<i>Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Shigella dysenteriae, Salmonella typhi</i>	-	Omojasola; Awe, (2004)
	DA	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>C. albicans, Trichophyton rubrum</i>	Schmourlo et al. (2005)
	DAD	<i>Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Enterobacter gergoviae, Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Pereira et al. (2006b); Mustapha; Hafsar, (2007)
	DAC, DC	<i>Escherichia coli, Klebsiella sp., Proteus mirabilis, Shigella boydii, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella paratyphi A, Salmonella paratyphi B, Salmonella typhi, Salmonella typhimurium</i>	<i>Citrobacter sp., Shigella sonnei, Streptococcus faecalis</i>	Satish et al. (2008)
	DAD	<i>Staphylococcus aureus, Staphylococcus albus, Enterococcus faecalis, Streptococcus pneumoniae, Klebsiella pneumoniae</i>	-	Abulude et al. (2009)
	DAP	<i>Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Salmonella typhi, Candida albicans</i>	<i>Salmonella typhi, C. albicans, E. coli</i>	Ayepola; Ishola, (2009)
	DAD	<i>Echerichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Candida albicans, Aspergillus níger</i>	-	Dahake et al. (2009) ; Agedah et al. (2010)
	DAD	-	<i>Fusarium equiseti, F.</i>	Satish et al. (2009)

			Graminearum, <i>F.lateritium</i> , <i>F. moniliforme</i> , <i>f.oxysporum</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. semitectum</i> , <i>F. solani</i>	
	DAC, DC	<i>Shigella boydii</i> , <i>Shigella flexnery</i>	<i>Shigella sonnei</i>	Satish et al. (2010)
	DAP	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> ,	<i>Cercospora zeaef maydis</i> , <i>Mycosphaerella berkeleyi</i>	Rajashree et al. (2011)
	DAD, DA	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Mycobacterium smegatis</i> , <i>Candida albicans</i>	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. marcescens</i>	Santos et al. (2011a)
	DAP	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina (MRSA), <i>Bacillus cereus</i>	<i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>E. coli</i> ,	Santos, (2011)
Fruto	DAD	<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus sp. coagulase</i>	<i>E. aerogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Providencia sp.</i>	Gonçalves et al. (2005a)
	DAD	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus fumigates</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Fusarium sp.</i>	<i>Curvalaria sp.</i>	Kannan et al. (2009)
	DAP	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i>	<i>Cercospora zeaef maydis</i> , <i>Mycosphaerella berkeleyi</i>	Rajashree et al. (2011)
Pseudofruto	DAC	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	Aiswarya et al. (2011)
	DAD	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Fusarium moniliforme</i> , <i>Fusarium lateritium</i>	<i>Fusarium decemcellulare</i>	Santos et al. (2011b)
Goma ou exsudato	DAD	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. flavides</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>A. candidus</i> , <i>Aspergillus chevalieri</i> , <i>Penicillium implicatum</i> <i>Colletotrichum musae</i> , <i>Penicillium sp.</i> , <i>Verticillium sp.</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Penicillium steckii</i> , <i>Penicillium implicatum</i> , <i>Penicillium chrisogenum</i> , <i>Penicillium digitatum</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. sydowi</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>Achlya sp.</i> , <i>Aureobasidium pulluans</i> , <i>Cunigamella blaskelean</i>	Marques et al. (1992)

Compostos isolados	DC	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>B. cereus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Lasiodiplodia theobromae</i> , <i>Colletotrichum</i> sp., <i>Kluyveromyces marxianus</i>	Torquato et al. (2004)
	DC	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Brevibacterium ammoniagenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Propionibacterium acnes</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>Israelensis</i> , <i>Streptococcus mutans</i>	<i>E. aerogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>C. utilis</i> , <i>P. chrysogenum</i> <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Proteus vulgares</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>C. utilis</i> , <i>Pityrosporum ovale</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i>	Himejima; Kubo, (1991) ; Kubo et al. (1993b); Muroi; Kubo, (1993) ; Kasemura et al. (2002)
	DC	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Brevibacterium ammoniagenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Propionibacterium acne</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus vulgares</i> , <i>Enterobacter aerogenes</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Pityrosporum ovale</i> , <i>Propionibacterium chrysogenum</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	-	Muroi et al. (1993)
	DA	<i>Helicobacter pylori</i>	-	Kubo et al. (1999)
	DAD, DC	<i>Streptococcus mutans</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Candida utilis</i>	-	Lima et al. (2000)
	DC	<i>Streptococcus mutans</i>	-	Gaitán et al. (2003)
	DC	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina (MRSA), <i>Streptococcus mutans</i>	-	Kubo et al. (2003)

DC: Diluição em caldo; DAD: Difusão em agar/técnica do disco; DAP: Difusão em agar/técnica do poço; DA: Diluição em agar; DAC: Difusão em agar/técnica do cilindro.

5 CAPÍTULO II

**Prospecção química, atividade antimicrobiana e antioxidante das folhas,
casca do caule e flores de *Anacardium occidentale* L.**

Rubenice A. da Silva, Valério Monteiro Neto e Rosane N. M. Guerra

RESUMO

Anacardium occidentale L., família Anacardiaceae, é espécie vegetal frequentemente utilizada para tratar infecções. Avaliamos a atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos obtidos das partes aéreas. Foram preparados, separadamente, os extratos etanólicos das folhas (EBFO), casca do caule (EBC) e flores (EBFL) para avaliação da atividade antimicrobiana por difusão em agar e diluição em caldo. Foi também determinada a Concentração Bactericida (CBM) e a Fungicida Mínima (CFM) contra: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella choleraesuis*, *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. A atividade antioxidante dos extratos foi determinada pelo sequestro de 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH). EBC, EBFO e EBFL foram analisados por métodos colorimétricos e por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de ultravioleta (CLAE/UV). Todos os extratos apresentaram ação antimicrobiana, sendo que EBFL foi o mais efetivo, pois teve efeito sobre todos os micro-organismos testados. Foram identificados em todos os extratos: ácidos orgânicos, alcaloides, compostos fenólicos, saponinas, taninos hidrolisáveis, triterpenos, flavonas, flavonóis, flavononas, esteroides e xantonas. Concluimos que compostos com atividade antimicrobiana, sobretudo com ação sobre bactérias cariogênicas, são predominantes nas flores, pois o EBFL foi o extrato com ação antimicrobiana sobre todos os micro-organismos testados e ainda, com ação semelhante a clorexidina.

Palavras chave: *Anacardium occidentale*, Antimicrobiano, Antioxidante; caju.

1 INTRODUÇÃO

Anacardium occidentale L., família Anacardiaceae, popularmente conhecido como cajueiro, é árvore frutífera, nativa do Brasil, com predominância na faixa litorânea dos estados do nordeste do país (Maia et al., 2000; Assunção; Mercadante, 2003). Os principais usos etnofarmacológicos da espécie incluem o tratamento de doenças infecciosas e inflamatórias e da dor como: doenças venéreas, doenças de pele, diarreias, estomatites, aftas, bronquite, cólicas intestinais, debilidade muscular, diabetes, dor de dente, fraqueza, inflamações, psoríases, tosse, entre outras (Corrêa, 1984; Girón et al., 1994; Luz, 2001; Borba; Macedo, 2006; Rodrigues, 2007; Aiswarya et al., 2011; Dare et al., 2011).

Há vários relatos quanto à atividade antimicrobiana do fruto (Himejima; Kubo 1991; Gaitán et al., 2003; Kubo et al., 2003; Kannan et al., 2009); pseudofruto (Muroi; Kubo, 1993; Muroi et al., 1993; Kubo et al., 1999); folhas e casca do caule (Laurens et al. 1982; Mackeen et al., 1997; Kudi et al. 1999; Akinpelu, 2001; Schmourlo et al., 2005; Braga et al., 2007; Melo et al., 2006; Pereira et al., 2006; Mustapha; Hafsath, 2007; Santos et al., 2007) e goma extraída desta espécie (Marques et al., 1992; Torquato et al., 2004), mas não há relatos de atividade semelhante nas flores.

Da mesma forma a atividade antioxidante foi descrita para o fruto (Kubo et al., 2006; Rodrigues et al., 2006; Sajilata; Singhal, 2006; Trevisan et al., 2006; kamath; Rajini, 2007; Chaves et al., 2010; Andrade et al., 2011; Oliveira et al., 2011), pseudofruto (Melo-Cavalcante et al., 2003; Trevisan et al., 2006; Broinizi et al., 2007; 2008), casca do caule (Chaves et al., 2010; Santos, 2011) e folhas (Jaiswal et al., 2010), mas não para flores.

Com base nessas considerações investigamos a atividade antimicrobiana e antioxidante, bem como a composição química de extratos obtidos das flores, folhas e da casca do caule, na perspectiva de avaliar qual das partes apresenta maior ação.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material botânico

As flores, folhas e casca do caule de *Anacardium occidentale* foram coletadas, com instrumento cortante, no Campus da Universidade Federal do Maranhão – UFMA, São Luís, Maranhão, Brasil, em julho de 2007, segundo determinações estabelecidas anteriormente (Oliveira et al., 1991; Von Hertwig, 1991). A identificação botânica foi realizada no Herbário Ático Seabra da UFMA, onde a exsicata está depositada sob nº 1050/ SLS017213.

2.2 Preparação dos extratos

As flores, folhas e casca do caule foram, em separado, submetidas à secagem em temperatura ambiente (25 ± 3 °C), por 24 horas, seguida de secagem em estufa a 37 °C, durante sete dias. O material seco foi triturado em moinho elétrico (TENAL TE 340) e extraído por maceração em etanol absoluto P. A., repetindo-se o processo a cada semana, por 3 semanas (Melo et al., 2006), com algumas modificações. Os extratos foram concentrados sob pressão reduzida, liofilizados e estocados a 4° C, em frascos estéreis, para realização dos ensaios. Os extratos das flores apresentaram rendimento médio de 15%, o das folhas 13% e da casca do caule 18%. Para os ensaios microbiológicos *in vitro*, 20 g de cada extrato liofilizado foi ressuspensão em 100 mL de água destilada estéril, esterilizados por filtração em membrana de 20 µm (Sartorius). Para a análise química, 10g dos extratos liofilizados foram ressuspensos em etanol absoluto (P. A., – Merck).

2.3 Prospecção química e análise cromatográfica (CLAE/UV) dos extratos de *Anacardium occidentale*

A prospecção dos extratos etanólicos das flores (EBFL), folhas (EBFO), casca do caule (EBC) de *A. occidentale* foi realizada utilizando métodos qualitativos e semiquantitativos para identificação das principais classes de metabólitos secundários. Os resultados foram observados por mudança de coloração, formação de precipitado e formação de espuma, considerando como critérios de avaliação: (+++) fortemente positivo; (++) moderadamente positivo; (+) fracamente positivo; (-) negativo. Todos os ensaios foram realizados em triplicata (Costa, 1994; Matos, 2009).

Os extratos das flores (EBFL), folhas (EBFO) e casca do caule (EBC) foram também analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria na região do ultravioleta (CLAE/UV), em escala analítica. Os cromatogramas de EBFL, EBFO, EBC foram obtidos em sistema Varian (Pro Star 310, Varian Star Workstation, 6.0). Programa: tempo de eluição 40 minutos, detecção 278nm, fluxo 1m/minutos. Coluna Polaris (C-18, fase reversa, protegida por uma pré-coluna de 2,5 cm) loop de 20 µL. Fase móvel: água ultrapura (Milli-Q) com 2% de ácido acético (A) e acetonitrila (Merck) (B). Tempo inicial de 0 minutos – 30 minutos, 70% de A e 30% de B até 50% de A e 50% de B. Tempo de 30 minutos - 40 minutos, 50% de A e 50% de B até 30% de A e 70% de B.

Os resultados foram expressos em tempo de retenção (T_r) em minutos e as concentrações, expressas em percentagens (%), com base na relação da integral da área dos picos.

2.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

2.4.1 Micro-organismos

A atividade antimicrobiana foi determinada sobre cepas padrão dos seguintes micro-organismos:

Bactérias Gram-positivas *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina - MRSA (ATCC 3438402), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615).

Bactérias Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Proteus mirabilis* (ATCC7002), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* (ATCC 51446), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700503), *Helicobacter pylori* (ATCC 43504). *Salmonella choleraesuis* foi proveniente de infecção clínica humana.

Fungos: *Candida albicans* (ATCC 18804), *Candida albicans* nº37, *Candida albicans* nº12, *Candida albicans* nº1, *Candida tropicalis* nº84, *Candida tropicalis* nº82; *Candida tropicalis* nº 59 e *Candida tropicalis* nº39, provenientes de infecções clínicas humanas. As cepas utilizadas foram obtidas da Fundação Osvaldo Cruz – Rio de Janeiro.

As bactérias foram cultivadas em caldo nutritivo BHI (DIFCO) e incubadas em estufa bacteriológica a 37 °C, 24 horas. As amostras de fungos foram repicadas em agar Sabouraud Dextrose (DIFCO) e incubadas a 37°C, 24 horas. As suspensões microbianas para os testes de susceptibilidade foram preparadas em solução salina estéril (NaCl 0,9%). A turbidez foi padronizada em 0,5, segundo a escala de McFarland (10^8 UFC/mL) (McFarland, 1907).

2.4.2 Difusão em agar

A atividade antimicrobiana foi determinada por difusão em agar, empregando-se a técnica das cavidades para a triagem (Smânia et al., 1999). Foram utilizadas placas de agar Brain Heart Infusion (BHI) para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, agar sangue para *Helicobacter pylori*, *Streptococcus pyogenes* e *Enterococcus faecalis*, agar

Mueller-Hinton para as demais bactérias e agar Sabouraud-Dextrose para *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. Nas placas foram realizadas perfurações (poços) de 5 mm de diâmetro.

As suspensões microbianas padronizadas foram semeadas com auxílio de um swab estéril e tratadas com 25µL dos extratos (EBFL, EBC e EBFO) e dos controles. Etanol absoluto foi empregado como controle do solvente, gluconato de clorexidina a 0,12% foi utilizado como controle positivo para as bactérias, fluconazol (128,0 µg/mL) para os fungos e água destilada foi usada como controle negativo em todos os ensaios.

As placas foram incubadas a 37 °C, por 1 hora, para difusão dos tratamentos, sendo, a seguir, invertidas para incubação. As placas com agar BHI e agar sangue foram incubadas em ambiente de microaerofilia, com 5% de CO₂, a 37°C, por 48 horas. As placas com agar sangue com os inócuos de *Helicobacter pylori* foram incubadas em ambiente de microaerofilia, com 5% de CO₂, a 37 °C, por mais 24 horas, totalizando 72 horas de incubação. As placas com agar Sabouraud e as com Mueller-Hinton foram incubadas em aerobiose, por 24 horas. Todos os ensaios foram feitos em duplicatas para cada um dos micro-organismos. Após a incubação, foi realizada a leitura dos halos de inibição e mensurados em milímetros.

2.4.3 Determinação da concentração bactericida (CBM) e fungicida (CFM) mínima

A determinação da concentração bactericida mínima (CBM) e da concentração fungicida mínima (CFM) foi realizada pela técnica de diluição em caldo (Smânia et al., 1999), empregando-se diluições seriadas dos extratos das flores (EBFL), folhas (EBFO) e casca do caule (EBC) em caldo BHI, em concentrações que variaram de 0,3125 a 2 mg/mL. Cada tubo recebeu 1µL da suspensão microbiana (10⁸ UFC/mL) e foi incubado a 37°C, por 24 horas. Em seguida, os tubos foram repicados em placas contendo agar:

- BHI para *S. mutans* e *L. acidophilus*,
- Sangue para *Helicobacter pylori*, *Streptococcus pyogenes* e *Enterococcus faecalis*,
- Mueller-Hinton para as demais bactérias e
- Sabouraud para a *Candida albicans* e *Candida tropicalis*.

Após a incubação das placas a 37°C e a constatação do crescimento microbiano foram determinadas as concentrações bactericida (CBM) e fungicida mínimas (CFM). Foram consideradas CBM e CFM as menores concentrações dos extratos onde não houve

crescimento microbiano. Não foi possível determinar a concentração inibitória mínima (CIM) devido a cor e a turbidez dos extratos.

2.5 Determinação da atividade antioxidante

Alíquotas de 5µL de cada extrato (200µg) e da quercetina, utilizada como padrão, (1mg/mL em metanol) foram aplicadas em placas cromatográficas de sílica gel 60 F₂₅₄ (0,2mm, Merck). A fase móvel utilizou uma mistura contendo n-butanol, ácido acético e água (67: 23: 10). A revelação dos cromatogramas foi feita com solução metanólica de 2,2-difenil-1-picrilhidrazila a 0,2% (DPPH, Sigma). A coloração roxa apareceu em aproximadamente 30 minutos e as manchas brancas ou amarelas foram indicativas da atividade sequestradora do radical livre DPPH (Brand-Williams et al., 1995; Cuendet et al., 1997). Os valores de fator de retenção (Rf) das manchas foram calculados e os cromatogramas fotografados e registrados em sistema CAMAG.

A atividade antioxidante quantitativa foi determinada em microplacas de 96 poços com auxílio de um leitor de Elisa (KC4-Bio-Tek Instruments INC, USA). Em cada um dos poços foram colocados 71,4µL de solução metanólica de DPPH (0,3Mm) e 178,5µL da amostra do extrato nas concentrações de (4, 2, 1 e 0,5 µg/mL). A quercetina foi utilizada como controle positivo (4µg/mL). As análises foram realizadas em triplicata (n=3). A microplaca foi mantida em temperatura ambiente e as medidas de intensidade da absorbância (515nm) foram realizadas em 15 e 30 minutos. A atividade antioxidante foi expressa em percentagem (%AA) a partir dos valores de absorbância conforme a equação: $\% AA = (Abs^{amostra} - Abs^{branco}) \times 100 / Abs^{controle}$ (Sousa et al., 2007).

A concentração eficiente CE₅₀ dos extratos analisados foi calculada com base nos dados obtidos da curva dose – resposta da atividade sequestradora do radical DPPH frente a quercetina (MERCK), após leitura em espectrofotômetro (Shimadzu, Japão) utilizando 512nm de comprimento de onda, (n=3). Foi considerada como Concentração Eficiente (CE₅₀) a concentração necessária para sequestrar 50% da concentração inicial de DPPH, também denominada de concentração inibitória (CI₅₀) (Sousa et al., 2007).

2.6 Análise estatística

O processamento e análise dos dados foram realizados no Stata 10.0 (Stata Corporation, College Station, Texas, USA). As variáveis foram expressas como média ± desvio

padrão. Foi empregado o teste de Mann–Whitney nas comparações entre duas variáveis e Kruskal-Wallis para múltiplas comparações. O nível de significância foi pré-estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

3.1 Prospecção química e perfil cromatográfico (CLAE/UV) dos extratos das folhas, flores e da casca de *Anacardium occidentale*

Foram detectados em todos os extratos de *A. occidentale*: ácidos orgânicos, alcaloides, compostos fenólicos, saponinas, taninos hidrolisáveis, triterpenos, flavonas, flavonóis, flavononas, esteroides e xantonas como fortemente ou moderadamente positiva nos extratos de flores e folhas. No extrato da casca a intensidade de detecção dos constituintes químicos foi menor do que nos demais, mas os compostos encontrados foram os mesmos (Tabela 1).

A figura 1 mostra que o perfil cromatográfico do EBFL apresentou 37 picos com seus respectivos tempo de retenção (T_r). Já o perfil cromatográfico do EBFO apresentou 33 picos e do EBC 35 picos. Em todos os cromatogramas os picos menores foram detectados abaixo de 4%.

3.2 Atividade antimicrobiana

A ação antimicrobiana dos extratos de flores (EBFL), folhas (EBFO) e casca do caule (EBC) de *A. occidentale* foi avaliada sobre quatorze espécies e/ou cepas bacterianas, considerando como padrão a clorexidina. O EBFO apresentou ação bacteriana para 10 micro-organismos e o extrato da casca apresentou atividade para 9, enquanto o EBFL foi efetivo em inibir o crescimento de todas as bactérias testadas (Tabela 2). A eficácia antimicrobiana do EBFL foi também evidenciada pela determinação da concentração bactericida mínima como mostra a tabela 3.

O EBFL apresentou ação antimicrobiana sobre as diferentes espécies e/ou cepas de *Candida*, quer seja pela inibição do halo de inibição (Tabela 4) ou pela determinação da concentração fungicida mínima (Tabela 5).

3.3 Atividade antioxidante

A determinação qualitativa da atividade antioxidante nos extratos EBC, EBFO e EBFL sugerem a existência de compostos com atividade antioxidante resultantes da redução do radical DPPH, sendo que o fator de retenção (R_f) para EBFL e EBC foi de 0,64 e para EBFO 0,74, portanto muito semelhantes ao da quercetina (0,85), composto isolado, usado como padrão. O mesmo ocorreu em relação à capacidade de sequestrar radicais livres quando os valores de CE_{50} foram 0,99 para o EBFL; 1,47 para o EBFO; 1,12 para o EBC e 1,71 para a quercetina (Tabela 6). A figura 2 mostra o percentual da atividade sequestradora do radical livre DPPH em microplaca dos extratos de *A. occidentale* e do controle positivo quercetina, após trinta minutos de reação.

4. DISCUSSÃO

4.1 Constituintes químicos dos extratos de *A. occidentale*

Estudos comparativos da prospecção química realizados com o extrato etanólico de flores (EBFL), folhas (EBFO) e casca do caule (EBC) mostraram que todos estes extratos são ricos em metabólitos secundários bioativos, sendo que os resultados mais fortemente positivos foram encontrados nas flores.

Da mesma forma que o aqui descrito Abulude et al. (2010) identificaram saponinas, resinas, alcaloides em extratos de *Anacardium occidentale*. Taninos hidrolisáveis e não hidrolisáveis foram descritos por Mota et al., (1985). Também já foram descritos outros compostos como: esteroides (Dinda et al., 1987), compostos fenólicos (Subramanian et al., 1969 ; Himejima; Kubo, 1991; Kubo et al., 1994; Paramashivappa et al., 2001; Kumar et al., 2002; Correia et al., 2006; Chaves et al., 2010), ácidos orgânicos (Dinda et al., 1987; Toschi et al., 1993) e flavonoides (Rahman et al., 1978; Murthy et al., 1981; Murthy et al., 1982; Correia et al., 2006; Abulude et al., 2010).

Variações de composição química qualitativa e/ou semiquantitativa em estudos com a mesma espécie vegetal podem ocorrer, tendo em vista a influência do desenvolvimento do vegetal, sazonalidade, ritmo circadiano, temperatura, índice pluviométrico, radiação, nutrientes, altitude, entre outros fatores ambientais (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Os resultados apresentados neste estudo comprovam que, embora a avaliação qualitativa dos constituintes químicos não apresente diferenças significativas entre os

extratos obtidos das flores, folhas e casca do caule, alcaloides e flavonoides apresentaram resultados mais expressivos no EBFL do que nos demais extratos.

Os perfis cromatográficos dos extratos das flores, folhas e de casca do caule de *Anacardium occidentale* nas mesmas condições de análises (Figura 1) indicam a presença de diferentes metabólitos secundários bioativos nos três extratos analisados.

4.2 Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana de extratos dos frutos, pseudofrutos, folhas e casca de *Anacardium occidentale* foi anteriormente descrita tanto para bactérias como fungos, sobretudo *Candida* (Laurens et al., 1982; Sathawane et al., 1997; Akinpelu, 2001; Schmourlo et al., 2005; Braga et al., 2007; Agedah et al., 2010; Rajashree et al., 2011). A atividade foi majoritariamente atribuída à presença de flavonoides, taninos, ácidos orgânicos, alcaloides, saponinas, terpenos e, especialmente, a presença de compostos fenólicos, com destaque aos ácidos anacárdicos, cardol e cardanol (Himejima; Kubo, 1991; Muroi; Kubo, 1993; Muroi et al., 1993; Kasemura et al., 2002; Kubo et al., 2003), compostos que isoladamente têm comprovada ação antimicrobiana, embora por mecanismo de ação ainda não completamente elucidado (Cowan, 1999; Iwu et al., 1999).

No presente estudo foi detectado um potente efeito antibacteriano dos extratos das flores, folhas e casca do caule de *A. occidentale* sobre várias espécies de bactérias. Comparativamente, os resultados mostraram uma maior efetividade do extrato das flores contra todos os micro-organismos testados, em relação aos extratos das folhas e de casca, pois o EBFL inibiu todas as bactérias testadas (Tabela 2) e também os fungos (Tabela 4), com valores dos halos de inibição maiores do que os formados pelos demais extratos e compatíveis com os formados pela clorexidina ou com o fuconazol utilizados como controle. Vale ressaltar que EBFO e o EBC foram efetivos apenas contra *Candida albicans* 37, mas não sobre as demais cepas. Indicando que no extrato das flores há compostos com ação antimicrobiana de largo espectro mais efetiva. Atestam a maior eficácia do EBFL como antimicrobiano os valores da concentração inibitória mínima (CBM) que variou de 0,626 mg/mL para *Salmonella choleraesuis* a 20 mg/mL para *Klebsiella pneumoniae* e *Proteus mirabilis*. A bactéria mais sensível ao EBFL foi *Salmonella choleraesuis*, sobretudo se considerarmos os valores do halo de inibição (33 mm) e da CBM (0,625 mg/mL).

Os três extratos foram efetivos contra *S. aureus* e MRSA, resultados que corroboram com outros estudos utilizando a casca do caule (Silva et al., 2007), casca do caule e folhas (Kudi et al., 1999) e ácidos anacárdicos isolados da castanha (Kubo et al., 2003; Green et al., 2007).

Bactérias *S. aureus* MRSA são conhecidas por sua resistência a uma série de antibióticos, por isso estão frequentemente associadas às complicações infecciosas em pacientes hospitalizados e em profissionais da saúde (Chambers, 1988). A resistência decorre da inativação enzimática, bem como das alterações nas proteínas fixadoras de penicilinas (PBPs). Além disso, alterações na permeabilidade impedem que o antibiótico chegue aos seus receptores (Ueno; Jorge, 2001; Fuda et al., 2004). Assim a efetividade dos três extratos sobre estes micro-organismos constitui-se em importante achado para prospecção de drogas com ação antimicrobiana.

A resistência a antimicrobianos tornou-se um dos principais problemas de saúde pública no mundo. Entre as principais bactérias causadoras de infecções, sobretudo as infecções hospitalares destacam-se *S. aureus*, MRSA, *E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa* (Arruda, 1998; Lowy, 1998; Santos, 2004; Andrade et al., 2006; Galoisse-Guibal, 2006; Pinhati et al., 2010; Cruvinel et al., 2011), todas resistentes a maioria dos antibióticos.

Outro fato importante é que os extratos também foram efetivos em inibir o crescimento das bactérias produtoras de β -Lactamase de espectro estendido (ESBL) tais como *K. pneumoniae* (ATCC 700503) e *E. coli* (ATCC 51446) (Rasheed et al., 2000; Haydel et al., 2008). Os três extratos testados foram efetivos para *K. pneumoniae* (ATCC 700503) e os extratos EBFL e EBFO foram efetivos para *E. coli* (ATCC 51446). Segundo Bouttier et al. (2002) a atividade antimicrobiana do líquido da casca da castanha *Anacardium occidentale* (LCC) está relacionada a inibição das β -Lactamases pelos ácidos anacárdicos. As β -Lactamases possuem considerável atividade de hidrólise e inativam uma grande variedade de antibióticos beta-lactâmicos. (Jain et al., 2003), assim os ácidos anacárdicos surgem como importante alternativa para controle de micro-organismos que utilizam esta estratégia como mecanismo de escape e resistência a maioria dos antibióticos disponíveis no mercado.

A resistência às drogas não se limita só as bactérias, mas tem se estendido a fungos patógenos, em particular, à espécie *C. albicans*, que com frequência está associada a infecções (Odds, 1994; Mukherjee et al., 2003; Cannon et al., 2007). Portanto é urgente e necessária a pesquisa de novos agentes antimicrobianos capazes de controlar os

mecanismos de multirresistência a essas drogas (Wanderley et al., 2003). Por isso, os nossos resultados sugerem que as várias partes aéreas de *A. occidentale*, sobretudo as flores são insumos promissores na bioprospecção de novos agentes antimicrobianos, de largo espectro, a serem utilizados no tratamento de doenças causadas por micro-organismos resistentes aos antibióticos comerciais disponíveis no mercado.

4.3 Atividade antioxidante

Antioxidantes são substâncias que, presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidativo, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato (Sousa et al., 2007).

No presente estudo, EBFL, EBFO e EBC mostraram ação antioxidante compatível a quercetina, baseado na capacidade de sequestrar radical DPPH livre. Resultados semelhantes foram anteriormente descritos em extratos da casca (Chaves et al., 2010; Santos, 2011) e das folhas (Jaiswal et al., 2010). A atividade antioxidante foi detectada em compostos isolados do líquido da casca da castanha de caju (LCC) incluindo os ácidos anacárdicos, cardol e cardanol (Kubo et al., 2006; Rodrigues et al., 2006; Trevisan et al., 2006; Andrade et al., 2011; Oliveira et al., 2011). Também foi detectada atividade antioxidante em subprodutos como no bagaço do pedúnculo (Broinizi et al., 2007, 2008), suco do pedúnculo (Melo-Cavalcante et al., 2003) e película da amêndoa (Kamath; Rajini, 2007). Entretanto, este é o primeiro relato da atividade antioxidante das flores.

Os compostos fenólicos são encontrados em todas as plantas como metabólitos secundários. Estes incluem fenóis simples, ácido hidroxibenzoico e derivados do ácido cinâmico, flavonoides, taninos e cumarinas, entre outros (Naczki; Shahidi, 2004). De acordo com Haslam (1996), os compostos fenólicos naturais têm recebido muita atenção nos últimos anos pela capacidade de inibirem a peroxidação lipídica e a lipoxigenase, *in vitro*. Assim, é possível que a atividade antioxidante detectada esteja relacionada à presença de compostos fenólicos presentes nos três extratos aqui testados (Tabela 1).

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos conclui-se que os extratos obtidos das flores, das folhas e da casca do caule de *Anacardium occidentale* são ricos em metabólitos secundários bioativos com potente efeito antimicrobiano contra bactérias Gram-positivas, Gram-

negativas e fungos, sendo que o extrato das flores apresentou maior efetividade ao inibir o crescimento de todos os micro-organismos avaliados. Adicionalmente os extratos apresentam ação antioxidante compatível à detectada para quercetina, sugerindo que *Anacardium occidentale* é espécie de grande potencial biotecnológico na busca de compostos com ação antibiótica de largo espectro e ainda fonte de compostos antioxidantes a serem utilizados nas indústrias de alimentos e de cosméticos.

REFERÊNCIAS

- Abulude, F.O., Ogunkoya, M.O, Akinjagunla, Y.S., 2010. Phytochemical screening of leaves and stem of cashew tree (*Anacardium occidentale*). Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 9, 815-819.
- Agedah, C.E., Bawo, D.D.S., Nyananyo, B.L., 2010. Identification of antimicrobial properties of cashew, *Anacardium occidentale* L. (Family Anacardiaceae). Journal of Applied Sciences and Environmental Management 14, 25-27.
- Aiswarya, G., Reza, K.H., Radhika, G., Farook, S.M., 2011. Study for antibacterial activity of cashew apple (*Anacardium occidentale*) extracts. Der Pharmacia Lettre 3, 193-200.
- Akinpelu, D.A., 2001. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. Fitoterapia 72, 286-287.
- Andrade, D., Leopoldo, V.C., Haas, V.J., 2006. Ocorrência de bactérias multiresistente em um centro de terapia intensiva de hospital brasileiro de emergências. Revista Brasileira de Terapia Intensiva 18, 27-33.
- Andrade, T.J.A.S., Araújo, B.Q; Citó, A.M.G.L., Silva, J., Saffi, J., Richter, M.F., Ferraz, A.B. F., 2011. Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (CNSL). Food Chemistry 126, 1044-1048.
- Arruda, E.A.G., 1998. Infecção hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente: análise epidemiológica no HC-FMUSP. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 31, 503-504.
- Assunção, R.B.; Mercadante, A.Z., 2003. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. Food Chemistry 81, 495-502.
- Borba, A.M., Macedo, M., 2006. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. Acta Botânica Brasílica 20, 771-782.
- Bouttier, S., Fourniat, J., Garofalo, C., Gleye, C., Laurens, A., Hocquemiller, R. 2002. β -Lactamase inhibitors from *Anacardium occidentale*. Pharmaceutical Biology 40, 231-234.
- Braga, F.G., Bouzada, M.L.M., Fabri, R.L., Matos, M.O., Moreira, F.O., Scio, E., Coimbra, E.S., 2007. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. Journal of Ethnopharmacology 111, 396-402.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technology 28, 25-30.

- Broinizi, P.R B., Andrade-Wartha, E.R.S., Silva, A.M.O., Novoa, A.J.V., Torres, R.P., Azeredo, H. M.C., Alves, R.E., Mancini-Filho, J., 2007. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). Ciências e Tecnologia de Alimentos 27, 902-908.
- Broinizi, P.R.B., Andrade-Wartha, E.R.S., Silva, A.M.O., Torres, R.P., Azeredo, H.M.C., Alves, R. E., Mancini-Filho, J., 2008. Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas 44, 773-781.
- Cannon, R.D., Lamping, E., Holmes, A.R., Niimi, K., Tanabe, K., Niimi, M., Monk, B.C., 2007. *Candida albicans* drug resistance – another way to cope with stress. Microbiology 153, 3211-3217.
- Chambers, H.F., 1988. Methicillin-resistant staphylococci. Clinical Microbiology Reviews 1, 173-186.
- Chaves, M.H., Citó, A.M.G.L., Lopes, J.A.D., Costa, D.A., Oliveira, C.A.A., Costa, A.F. Brito-Júnior, F.E.M., 2010. Total phenolics, antioxidant activity and chemical constituents from extracts of *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. Brazilian Journal of Pharmacognosy 20, 106-112.
- Corrêa, M.P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. p.400-402.
- Correia, S.J., David, J.P., David, J.M., 2006. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. Química Nova 29, 1287-1300.
- Costa, A.F. Farmacognosia. 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. v. II. 1023 p.
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews 12, 564-582.
- Cruvinel, A.R., Silveira, A.R., Soares, J.S., 2011. Perfil antimicrobiano de *staphylococcus aureus* isolado de pacientes hospitalizados em UTI no Distrito Federal. Cenarium Farmacêutico 4, 1-11.
- Cuendt, M.; Hostettmann, K.; Potterat, O.; Dyatmiko, K., 1997. Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. Helvetica Chimica Acta 80, 1144-1152.
- Dare, S.S., Hamman, W.O., Musa, S., Goji, A.D.T., Oyewale, A.A., Abba, S., Ezekiel, I., 2011. Effects of aqueous extracts of *Anacardium occidentale* (Cashew) leaves on pregnancy outcome of wistar rats. International Journal of Animal and Veterinary Advances 3, 77-82.

- Dinda, B., Chatterjee, J., Banerjee, J., 1987. Sterol from *Anacardium occidentale*. Journal of the Indian Chemical Society LXIV: 647-648.
- Fuda, C., Suvorov, M., Vakulenko, S.B., Mobashery, S., 2004. The basis for resistance to β -Lactam antibiotics by penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. The Journal of Biological Chemistry 39, 40802-40806.
- Gaitán, S., Rico, Y., Medina, R., Segura, R., 2003. Efecto de la temperatura de industrialización de la nuez de marañón en la actividad antibacteriana en *S. mutans* del líquido de la cáscara (LCNM). Revista Colombiana de Química 32, 103-112.
- Galoise-Guibal, L.; Soubirou, J. L., Desjeux, G., Dusseau, J.Y., Eve, O., Escarment, J., Ecochard, O., 2006. Screening for multidrug-resistant bacteria as a predictive test for subsequent onset of nosocomial infection. Infection Control and Hospital Epidemiology 27, 1233-1241.
- Girón, L.M., Freire, V., Alonzo, A., Cáceres, A., 1994. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. Journal of Ethnopharmacology 48, 8-20.
- Gobbo-Neto, L., Lopes, N., 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. Química Nova 30, p.374-381.
- Green, I. R., Tocoli, F. E., Lee, S. H., Nihei, K., Kubo, I., 2007. Molecular design of anti-MRSA agents based on the anacardic acid scaffold. Bioorganic & Medicinal Chemistry 15, 6236-6241.
- Haslam, E., 1996. Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. Journal of Natural products 59, 205-215.
- Haydel, S.E., Remenih, C.M., Williams, L.B., 2008. Broad-spectrum *in vivo* antibacterial activities of clay minerals against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistance bacterial pathogens. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 61, 353-361.
- Himejima, M., Kubo, I., 1991. Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry 39, 418-421.
- Iwu, M.W., Duncan, A.R., Okunji, C.O. New antimicrobials of plant origin. In: Janick, J. (ed.) Perspectives on New Crops and New Uses. ASHS Press, Alexandria, V.A., 1999, 457-462.
- Jain, A., Roy, I., Gupta, M.K., Kumar, M., Agarwal, S.K., 2003. Prevalence of extended spectrum beta-lactamase-producing gram-negative bacteria in septicemic neonates in a tertiary care hospital. Journal of Medical Microbiology 52, 421-425.

- Jaiswal, Y.S., Tatke, P.A., Gabhe, S.Y., Vaidya, A., 2010. Antioxidant activity of various extracts of leaves of *Anacardium occidentale* (Cashew). *Research Journal of Pharmaceutical Biological Chemical Science* 4, 112-119.
- Kamath, V., Rajini, P. S., 2007. The efficacy of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. *Food Chemistry* 103, 428-433.
- Kannan, V.R., Sumathi, C.S., Balasubramanian, V., Ramesh, N., 2009. Elementary chemical profiling and antifungal properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) nuts. *Botany Research International* 2, 253-257.
- Kasemura, K., Nomura, M., Tada, T., Fujihara, Y., Shimomura, K., 2002. Antimicrobial and tyrosinase inhibitory activities of 6-[(8Z)-8-Pentadecenyl] salicylic acid derivatives. *Journal of Oleo Science* 51, 637-642.
- Kubo, I., Kinst-Hori, I., Yokokawa, Y., 1994. Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits. *Journal of Natural Products* 57, 545-551.
- Kubo, J., Lee, J.R., Kubo, I., 1999. Anti-*Helicobacter pylori* agents from the cashew apple. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 533-537.
- Kubo, I., Nihei, K., Tsujimoto, K., 2003. Antibacterial action of anacardic against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7624-7628.
- Kubo, I., Masuoka, N., Ha, T.J., Tsujimoto, K., 2006. Antioxidant activity of anacardic acids. *Food Chemistry* 99, 555-562.
- Kudi, A.C., Umoh, J.U., Eduvie, L.O., Gefu, J., 1999. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 67, 225-228.
- Kumar, P.P., Paramashivappa, R., Vithayathil, P. J., Rao, P.V.S., Rao, A. S., 2002. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 4705-4708.
- Laurens, A., Mboup, S., Giono-Barber, P., Sylla, O., David-Prince, M., 1982. Étude de l'action antibactérienne d'extraits d'*Anacardium occidentale* L. *Annales Pharmaceutiques Françaises* 40, 143-146.
- Lowy, F.D., 1998. *Staphylococcus aureus* infections. *New England Journal of Medicine* 339, 520-532.
- Luz, F.J.F., 2001. Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil. *Horticultura Brasileira*. 19, 88-96.

- Mackeen, M.M., Ali, A.M., El-Sharkawy, S.H., Manap, M.Y., Salleh, K.M., Lajis, N.H., Kawazu, K., 1997. Antimicrobial and cytotoxic properties of some Malaysian traditional vegetables (Ulam). *International Journal of Pharmacognosy* 35, 174-178.
- Maia, J.G.S., Andrade, E.H.A., Zoghbi, M.G.B., 2000. Volatile constituents of the leaves, fruits and flowers of cashew (*Anacardium occidentale*). *Journal of Food Composition and Analysis* 13, 227-232.
- Marques, M.R., Albuquerque, L.M.B., Xavier-Filho, J., 1992. Antimicrobial and insecticidal activities of cashew tree gum exudate. *Annals Applied Biology* 121, 371-377.
- Matos, F. J. A. Introdução à fitoquímica experimental. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150 p.
- McFarland, J., 1907. The nephelometer: an estimating the number of bacteria in suspensions for calculating the opsonic index and vaccines. *Journal of the American Medical Association* 49, 1176.
- Melo, A.F.M., Santos, E.J.V., Souza, L.F.C., Carvalho, A.A.T., Pereira, M.S.V., Higino, J.S., 2006. *In vitro* antimicrobial activity of an extract of *Anacardium occidentale* L. against *Streptococcus* species. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 16, 202-205.
- Melo-Cavalcante, A.A., Rubensam, G., Picada, J.N., Silva, E.G., Moreira, F.J.C., Henriques, J.A.P., 2003. Mutagenicity, antioxidant potential and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuina. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 41, 360-369.
- Mota, M.L.R., Thomas, G., Barbosa Filho, J.M., 1985. Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. *Journal of Ethnopharmacology* 13, 289-300.
- Mukherjee, P. K., Chandra, J., Kuhn, D. M., Ghannoum, M., 2003. Mechanism of fluconazol resistance in *Candida albicans* biofilms; phase-specific role of efflux pumps and membrane sterols. *Infection and Immunity* 71, 4333-4340.
- Muroi, H., Kubo, I., 1993. Bactericidal activity of anacardic acids against *Streptococcus mutans* and their potentiation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41, 1780-1783.
- Muroi, H., Kubo, A., Kubo, I., 1993. Antimicrobial activity of cashew apple flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1106-1109.

- Murthy, S.S.N., Anjaneyulu, A.S.R., Row, L.R., 1981. Occidentoside - a new biflavonoid glycoside from the nut shells of *Anacardium occidentale* Linn. Indian Journal of Chemistry B 20, 150-151.
- Murthy, S.S.N., Anjaneyulu, A.S.R., Row, L.R., Pelter, A., Ward, S., 1982. Chemical examination of *Anacardium occidentale* isolation and structure determination of a novel biflavonoid-C-glycoside. Planta Medica 45, 3-10.
- Mustapha, Y., Hafsai, S., 2007. Antibacterial activities of *Anacardium occidentale* (L.) leaf extract against some selected bacterial isolates. International Journal of Pure and Applied Sciences 1, 40-43.
- Naczek, M., Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. Journal of Chromatography A 1054, 95-111.
- Odds, F.C., 1994. Pathogenesis of Candida infections. Journal of American Academy of Dermatology 31, 142-147.
- Oliveira, F., Akisue, G., Akisue, M.K., 1991. Farmacognosia. São Paulo: Atheneu, 426p.
- Oliveira, M.S.C., Morais, S.M., Magalhães, D.V., Batista, W.P., Vieira, I.G.P., Craveiro, A.A., Menezes, J.E.S.A., Carvalho, A.F.U., Lima, G.P.G., 2011. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. Acta Tropica 117, 165-170.
- Paramashivappa, R., Kumar, P.P., Vithayathil, P.J., Rao, A.S., 2001. Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49, 2548-2551.
- Pereira, J.V., Sampaio, F.C., Pereira, M.S.V., Melo, A.F.M., Higino, J.S., Carvalho, A.A.T., 2006. *In vitro* antimicrobial activity of an extract from *Anacardium occidentale* Linn. on *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. Odontologia Clínica-Científica 5, 137-141.
- Pinhati, H.M.S., Moura, E.B., Damasceno, C.M.G., 2010. Bactérias multirresistentes: enfoque sobre os Gram-negativos hospitalares. Brasília Médica 47, 460-464.
- Rahman, W., Ishratullah, K., Wagner, H., Seligmann, O., Chari, V.M., Österdahl, B.G., 1978. Prunin-6''-O-p-coumarate, a new acylated flavanone glycoside from *Anacardium occidentale*. Phytochemistry 17, 1064-1065.

- Rajashree, R., Robin, G.A.T., Namashivayam, S.K.R., 2011. First report of antimicrobial activity of seed coat extract from *Anacardium occidentale* L. (Cashew nut) on bacteria and phytopathogenic fungi. *Journal of Herbal and Medicinal Plants* 1, 23-35.
- Rasheed, J. K., Anderson, G. J., Yigit, H., Queenan, A. M., Doménech-Sánchez, A., Swenson, J. M., Biddle, J. W., Ferraro, M. J., Jacoby, G. A., Tenover, F. C., 2000. Characterization of the extended-spectrum β -Lactamase reference strain *Klebsiella pneumoniae* K6 (ATCC 700603), which produces the novel enzyme SHV-18. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 44, 2382-2388.
- Rodrigues, F.H.A., Feitosa, J.P.A., Ricardo, N.M.P.S., França, F.C.F., Carioca, J.O.B., 2006. Antioxidant activity of cashew nut Shell liquid (CNSL) derivatives on the thermal oxidation of synthetic cis-1,4-polysoprene. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 17, 265-271.
- Rodrigues, E., 2007. Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river Dweller, Indian and Quilombola). *Journal of Ethnopharmacology* 111, 295-302.
- Sajilata, M.G., Singhal, R.S., 2006. Effect of irradiation and storage on the antioxidative activity of cashew nuts. *Radiation Physics and Chemistry* 75, 297-300.
- Santos, F.O. Atividades biológicas de *Anacardium occidentale* (Linn). 2011. 57 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Sistema Agrossilvipastoris no Semi-Árido) - Universidade Federal de Campinas Grande, Paraíba, 2011.
- Santos, E.B., Slusarz, P.A.A., Kozlowski Junior, V.A., Schwartz, J.P., 2007. Antimicrobial effectiveness of natural products against microorganisms related to bacterial endocarditis. *Publicatio UEPG Biology Health Sciences* 13, 67-72.
- Santos, N.Q., 2004. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. *Texto Contexto Enfermagem* 13, 64-70.
- Sathawane, P.N., Patel, D.L., Kasture, V.S., Kasture, S.B., Pal, S.C., 1997. Antimicrobial activity of extracts of *Anacardium occidentale*. *Indian Drugs* 34, 459-462.
- Schmourlo, G., Mendonça-Filho, R.R., Alviano, C.S., Costa, S.S., 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *Journal of Ethnopharmacology* 96, 563-568.
- Silva, J.G., Souza, I.A, Higino, J.S., Siqueira-Júnior, J.P., Pereira, J.V., Pereira, M.S.V., 2007. Antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of *Anacardium occidentale* Linn. against multi-drug resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 17, 572-577.

- Smania, A. Jr., Delle Monache, F., Smania, E.F.A., Cuneo, R.S., 1999. Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (Aphyllophoromycetideae) Fruit body. International Journal of Medicinal Mushrooms, 1, 325-330.
- Sousa, C.M.M.; Silva, H.R.; Vieira-Jr G.M.; Ayres, M.C.C.; Costa, C.L.S.; Araújo, D.S.; Cavalcante, L.C.D., Barros, E.D.S., Araújo, P.B.M., Brandão, M.S., Chaves, M.H., 2007. Fenóis totais e Atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. Quimica Nova 30, p.351-355.
- Subramanian, S.S., Joseph, K.J., Nair, A.G.R., 1969. Polyphenols of *Anacardium occidentale*. Phytochemistry 8, 673-673.
- Torquato, D.S., Ferreira, M.L., Sá, G.C., Brito, E.S., Pinto, G.A.S., Azevedo E.H.F., 2004. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. World Journal of Microbiology & Biotechnology 20, 505-507.
- Toschi, T.G., Caboni, M.F., Penazzi, G., Lercker, G., Capella, P., 1993. A study on cashew nut oil composition. Journal of the American Oil Chemists' Society 70, 1017-1020.
- 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, 188-197.
- Ueno, M., Jorge, A.O.C., 2001. Caracterização de *Staphylococcus aureus* resistentes à metilicina, envolvidos em infecções nosocomiais, por meio de técnicas fenotípicas e análise de perfil plasmidial. Revista Biociências 7, 15-22.
- Von Hertwig, I.F. Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem e comercialização. 2.ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414 p.
- Wanderley, L.R., Santos, A.L.A., Silva Filho, A.V., Cordeiro, L. N., Souza, L.B.S., Santana, W.J., Coutinho, H.D.M., 2003. Resistência de *Pseudomonas aeruginosa* e outras bactérias Gram-negativas a drogas antimicrobianas. Unimar Ciências 12, 33-40.

TABELAS

Tabela 1 - Avaliação qualitativa e semiquantitativa dos constituintes químicos dos extratos etanólicos de flores, folhas e casca do caule de *A. occidentale*.

Metabólitos secundários	Extratos de <i>Anacardium occidentale</i>		
	Flores	Folhas	Casca
Ácidos orgânicos	+++	+++	++
Alcaloides	+++	++	++
Compostos fenólicos	+++	+++	+++
Cumarinas	-	-	-
Resinas	-	-	-
Saponinas	+++	+++	+
Taninos condensados	-	-	-
Taninos hidrolisáveis	+++	+++	+++
Esteroides	++	++	+
Triterpenos	+++	+++	+
Antocianinas, antocianidinas	-	-	-
Flavonas, flavonóis e xantonas	+++	++	++
Chalconas	-	-	-
Flavononóis	-	-	-
Leucoantocianidinas	-	-	-
Catequinas	-	-	-
Flavononas	++	+	-

(+++)
 (++)
 (+)
 (-)

fortemente positivo, moderadamente positivo, fracamente positivo negativo.

Tabela 2 - Atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos da casca do caule, folhas e flores de *A. occidentale* sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Micro-organismos	Extrato bruto/halo de inibição (mm)			Clorexidina ^a
	Casca ^a	Folhas ^a	Flores ^a	
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	13 ± 3	10 ± 1	15 ± 1	20 ± 1
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	10 ± 1	11 ± 1	21 ± 1	20 ± 1
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 51446)	SI ^b	10 ± 1	18 ± 1	20 ± 1
<i>Helicobacter pylori</i> (ATCC 43504)	11 ± 1	12 ± 1	19 ± 1	24 ± 1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700503)	8 ± 1	8 ± 1	13 ± 3	11 ± 1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 13883)	SI	SI	12 ± 1	11 ± 1
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 00076)	SI	SI	15 ± 1	20 ± 1
<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 7002)	14 ± 1	12 ± 1	17 ± 1	9 ± 1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	SI	SI	19 ± 1	12 ± 1
<i>S. aureus</i> MRSA (ATCC 3438402)	16 ± 1	15 ± 1	18 ± 1	20 ± 1
<i>Salmonella choleraesuis</i>	15 ± 1	14 ± 2	33 ± 1	20 ± 1
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	17 ± 1	16 ± 1	22 ± 1	21 ± 1
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	SI	SI	18 ± 1	25 ± 1
<i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC 19615)	12 ± 1	10 ± 1	16 ± 1	19 ± 1

^a Resultados: médias ± desvio padrão de amostras testadas em duplicata.

^b SI: Sem halo de inibição.

Tabela 3 - Concentração bactericida mínima (CBM) de extratos etanólicos de flores, folhas e casca do caule de *A. occidentale* sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas .

Micro-organismos	Extrato bruto (mg/mL)		
	Flores	Folhas	Casca
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	1,25 ± 1	20 ± 1	20 ± 1
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 51446)	1,25 ± 1	10 ± 1	NR
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	10 ± 1	20 ± 1	20 ± 1
<i>Helicobacter pylori</i> (ATCC 43504)	5 ± 1	20 ± 1	10 ± 1
<i>Klebisella pneumoniae</i> (ATCC 13883)	20 ± 1	NR*	NR
<i>Klebisella pneumoniae</i> (ATCC 700503)	20 ± 1	NR	NR
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4356)	5 ± 1	NR	NR
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	1,25 ± 1	NR	NR
<i>Proteus mirabilis</i> (ATCC 7002)	20 ± 1	20 ± 1	20 ± 1
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	10 ± 1	10 ± 1	20 ± 1
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA (ATCC 3438402)	2,5 ± 1	10 ± 1	5 ± 1
<i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175)	2,5 ± 1	NR	NR
<i>Streptococcus pyogenes</i> (ATCC 19615)	5 ± 1	NR	5 ± 1
<i>Salmonella Choleraesuis</i>	0,625 ± 0	5 ± 1	5 ± 1

*NR: Não realizado, pois os extratos não formaram halos de inibição.

Tabela 4 - Atividade antifúngica de extratos de flores, folhas e casca do caule de *A. occidentale* L. sobre *Candida* sp.

Espécie/amostra		Extrato/halo de inibição (mm)*			Fluconazol ^a
		Flores ^a	Folhas ^a	Casca ^a	
	ATCC 18804	16 ± 1	SI ^b	SI	15 ± 1
<i>Candida albicans</i>	37	19 ± 1	12 ± 1	11 ± 1	13 ± 1
	12	17 ± 1	SI	SI	13 ± 1
	1	13 ± 1	SI	SI	12 ± 1
<i>Candida tropicalis</i>	39	15 ± 1	SI	SI	15 ± 1
	59	14 ± 1	SI	SI	15 ± 1
	84	14 ± 1	SI	SI	13 ± 2
	82	14 ± 1	SI	SI	14 ± 0

^a Resultados: médias ± desvio padrão de amostras testadas em duplicata.

^b SI = sem halo de inibição.

(*) (p<0,05).

Tabela 5 - Concentração fungicida mínima (CFM) de extratos etanólicos de flores, folhas e casca do caule de *A. occidentale* sobre *Candida* sp.

Espécie /amostra		Extratos brutos (mg/mL)		
		Flores	Folha	Casca
	ATCC 18804	20 ± 1	NR*	NR
<i>Candida albicans</i>	37	20 ± 1	>20	>20
	12	20 ± 1	NR	NR
	1	20 ± 1	NR	NR
	39	20 ± 1	NR	NR
<i>Candida tropicalis</i>	59	20 ± 1	NR	NR
	84	20 ± 1	NR	NR
	82	20 ± 1	NR	NR

*: NR Não realizado, pois não formou halo de inibição.

Tabela 6 – Atividade antioxidante dos extratos de casca do caule, folhas e flores de *A. occidentale* em comparação a quercetina, considerando o percentual (%AA) de inibição do 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH)

Tempo (Minutos)	Amostras	Concentração dos extratos (µg/mL)				CE ₅₀
		0,5	1	2	4	
30	Flores	24 ± 2	48 ± 1	85 ± 3	94 ± 0,2	0,99
	Folhas	17 ± 1	30 ± 1	57 ± 1	90 ± 0,4	1,47
	Casca	22 ± 2	42 ± 1	76 ± 2	94 ± 0,5	1,12
	Quercetina	-	-	-	94 ± 0,5	1,71

FIGURAS

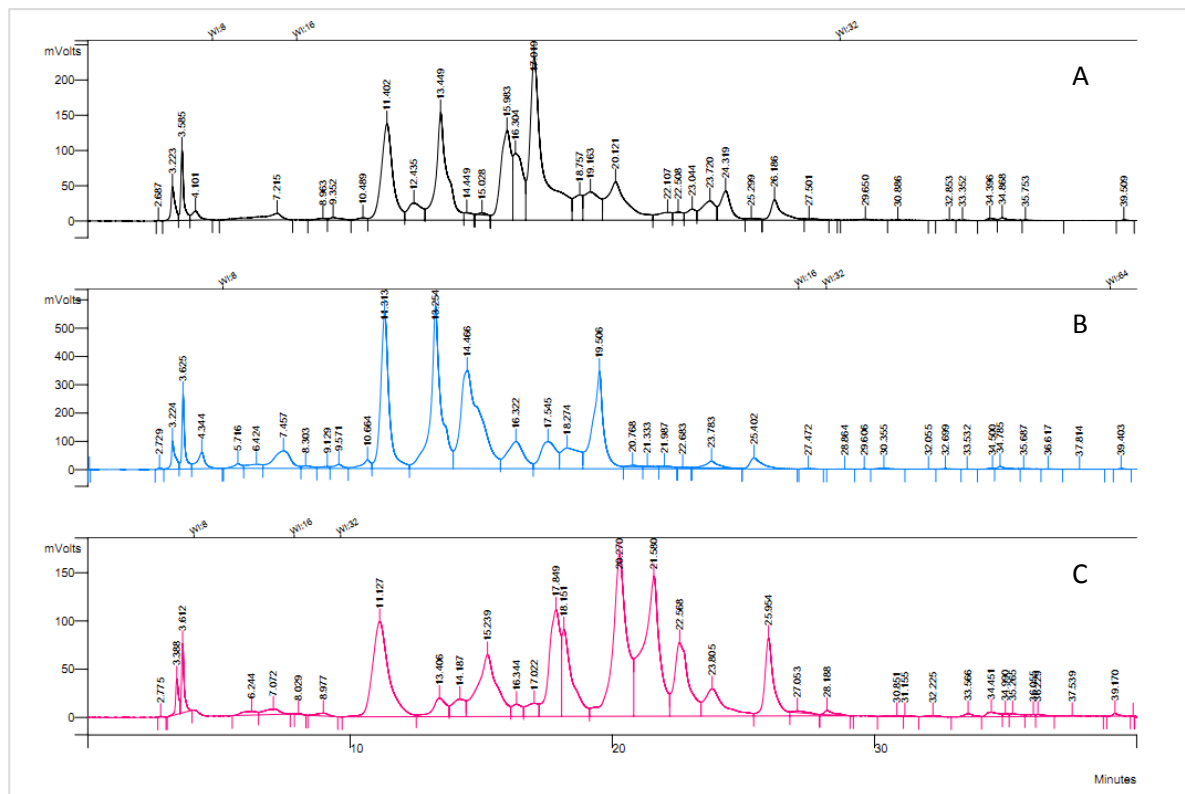


Figura 1 - Perfis cromatográficos (CLAE/UV, 278nm) do extrato da casca do caule (A) flores (B) e folhas (C) de *Anacardium occidentale*.

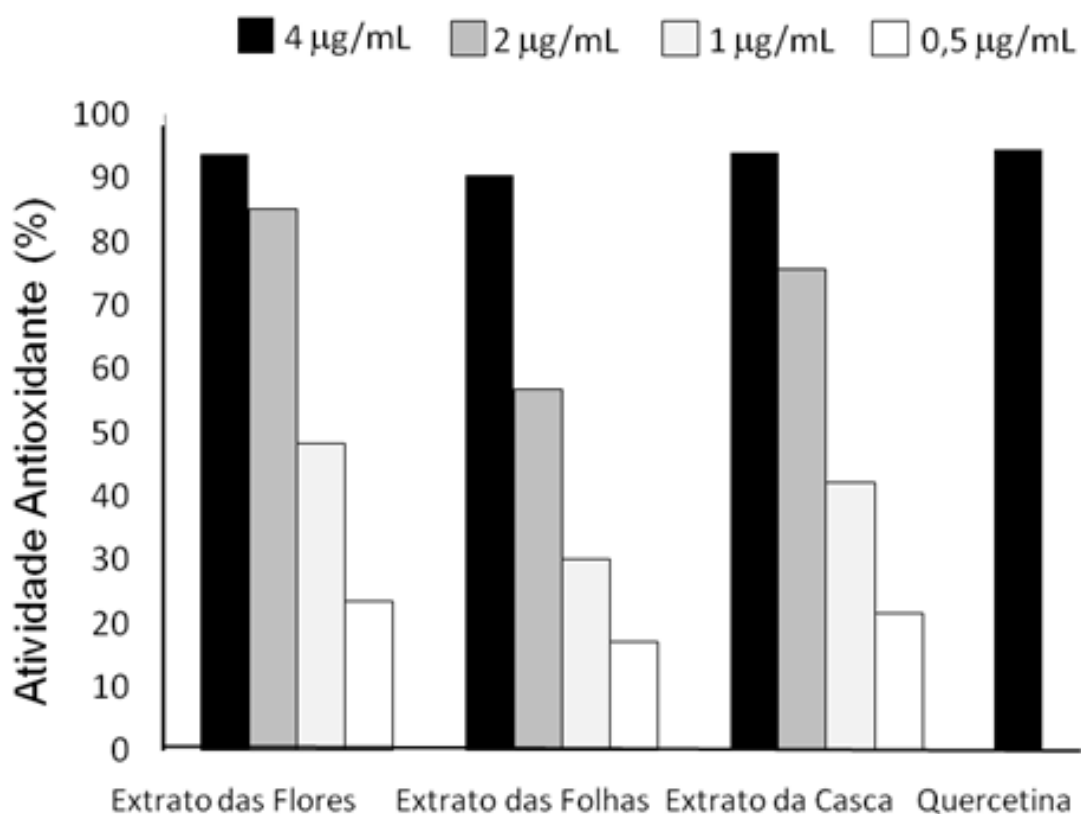


Figura 2 - Atividade antioxidante de extratos das flores (EBFL), folhas (EBFO) e casca do caule (EBC) de *A. occidentale* em comparação a quercetina (MERCK, $4\mu\text{g.mL}^{-1}$) utilizada como controle positivo para avaliar o sequestro de radicais livres de DPPH, em trinta minutos. Os resultados representam o percentual de inibição dos valores obtidos em quadruplicata para cada um dos extratos nas concentrações de 0,5; 1; 2 e 4 $\mu\text{g/mL}$.

6 CAPÍTULO III

Manuscrito a ser submetido a Planta Medica

Estudo químico e ação anticárie do extrato de flores de *Anacardium occidentale* L.

Rubenice A. da Silva, Valério Monteiro Neto e Rosane N. M. Guerra

RESUMO

O presente estudo avaliou a atividade do extrato etanólico de flores (EBFL) de *Anacardium occidentale* e de suas frações sobre micro-organismos cariogênicos e *Candida albicans*; avaliou a atividade do extrato sobre a viabilidade do biofilme de *Streptococcus mutans* e identificou a composição química do extrato etanólico e da fração ativa. A atividade antimicrobiana foi avaliada por difusão em agar e por diluição em caldo para determinação da Concentração Bactericida (CBM) e da Concentração Fungicida (CFM) Mínima. A composição química do EBFL e da fração ativa foi determinada por cromatografia a gás acoplada com espectrometria de massa, após derivatização (CG/EM/BSTFA) e espectrometria de prótons. O extrato etanólico das flores apresentou atividade antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Candida albicans* e ainda efeito bactericida sobre o biofilme de *Streptococcus mutans*. A concentração bactericida e fungicida mínima (CBM e CFM) do EBFL sobre os micro-organismos testados foram estimadas em 2,5 mg/mL para *Streptococcus mutans*, 5 mg/mL para *Lactobacillus acidophilus* e 20 mg/mL para *Candida albicans*. Foram identificados no extrato bruto das flores: ácido fosfórico, ácido dodecanoico, ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico e ácido 1,2-benzenodicarboxílico. Na fração F1 foram identificados: ácido fosfórico, ácido benzoico, ácido chiquímico, frutose, glicose, ácido etilgálico, sorbitol, ácido gálico, ácido hexadecanoico, mio-inositol e ácido octadecanoico. Somente a fração F1 inibiu o crescimento de *S. mutans*, *L. acidophilus* e *C. albicans* tanto nas culturas de células planctônicas como no biofilme. Considerando que o ácido chiquímico, em isolado, não apresentou atividade e que não foram detectados ácidos anacárdicos no extrato das flores concluímos que atividade antimicrobiana não está associada à presença destes compostos. Ressaltamos que por se tratar de extrato bruto a atividade detectada pode também ser resultante da ação sinérgica de vários compostos presentes no EBFL. Em conjunto, os dados sugerem que *Anacardium occidentale* é espécie promissora para obtenção de compostos a serem empregados no controle ou prevenção da cárie dentária, bem como na candidíase oral.

Palavras chaves: Atividade antimicrobiana, *Anacardium occidentale*, Caju, Cárie dentária, Biofilme.

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária e a doença periodontal são consideradas questões relevantes para a saúde pública no Brasil, cerca de 60% de crianças de até cinco anos de idade, são afetadas por estas doenças (Brasil, 2007).

A cárie se desenvolve a partir da formação de um biofilme dental decorrente da colonização por micro-organismos acidogênicos, o que resulta na desmineralização do esmalte (Selwitz et al., 2007), sendo que *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Lactobacillus acidophilus*, são considerados os principais micro-organismos responsáveis pela instalação e manutenção do processo cariogênico (Loesche, 1986; Leverett et al., 1993; Marsh, 1999; Featherstone, 2000).

Nas infecções orais *Candida albicans* é a mais frequente das leveduras (O'Sullivan et al., 2000). Há evidências de que estes micro-organismos estão diretamente associados ao desenvolvimento da cárie e da doença periodontal (Järvensivu et al., 2004), devido a propriedade de formar biofilme sobre superfície dentária (Ramage et al., 2005), tanto diretamente, como agregadas as bactérias (Arendorf; Walker, 1980; Nikawa et al., 1998).

Métodos mecânicos, como a escovação e o fio dental, são considerados eficazes no controle da placa bacteriana (Macedo; Lacaz-Neto, 1983; Fernandes; Guedes-Pinto, 1995), devido a efetividade que apresentam sobre o controle da placa bacteriana, na maioria das vezes (Costa et al., 2001). Contudo, muitas vezes é necessário o uso de agentes químicos como coadjuvante da higiene bucal. Dentre esses agentes, o gluconato de clorexidina é o mais estudado e eficaz (Bowden, 1996; Torres et al., 2000; Zanata; Rösing, 2007). Entretanto o seu uso pode resultar em manchas nos dentes e nas restaurações, queimação na língua, inflamações gengivais, descamação e ferimento na mucosa oral, distúrbios no paladar, o que leva a restrições quanto à dosagem e ao tempo de aplicação da clorexidina (Autio-Gold, 2008). Os vários efeitos colaterais da clorexidina têm motivado a busca por alternativas de novos antissépticos para uso odontológico que possam ser utilizados em soluções de enxaguatórios bucais e dentifrícios.

Anacardium occidentale L., Anacardiaceae, apresenta comprovada atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Previamente foi evidenciada ação de extratos e compostos isolados das partes aéreas contra *Streptococcus mutans* (Himejima; Kubo, 1991; Muroi; Kubo, 1993) e *Candida albicans*, (Marques et al., 1992; Mackeen et al., 1997; Schmourlo et al., 2005; Braga et al., 2007; Dahake et al., 2009;

Kannan et al., 2009). Recentemente detectamos que o extrato das flores apresenta ação antimicrobiana mais efetiva do que os demais extratos. Entretanto, não foram encontrados dados relativos ao efeito antimicrobiano das flores. Assim, foi objetivo deste estudo avaliar a atividade anticárie do extrato das flores e de suas frações considerando sua ação sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Candida albicans*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material botânico

As coletas das flores de *Anacardium occidentale* foram realizadas com instrumento cortante no Campus do Bacanga da Universidade Federal do Maranhão, município de São Luís, estado do Maranhão, Brasil, em julho/2007 e setembro/2008, segundo determinações estabelecidas anteriormente (Oliveira et al., 1991; Von Hertwig, 1991). A identificação botânica foi realizada no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), onde a exsicata está depositada sob nº 1050/ SLS017213.

2.2 Preparo do extrato bruto etanólico das flores (EBFL) de *Anacardium occidentale*

As flores foram submetidas à secagem em temperatura ambiente (25 ± 3 °C), por 24 horas, seguida de secagem em estufa a 37 °C durante sete dias. O material seco foi triturado em moinho elétrico (TENAL TE 340) e extraído por maceração em etanol absoluto P. A., repetindo o processo a cada semana, por 3 semanas (Melo et al., 2006), com algumas modificações. O extrato foi concentrado sob pressão reduzida, liofilizado e estocado em frascos estéreis a 4 °C, até a realização dos ensaios. Os extratos das flores apresentaram rendimento médio de 15%.

Foram obtidos dois extratos para as flores em anos e meses diferentes (25/07/2007 e 04/09/2008). A cada ano amostras dos extratos das flores foram testadas quanto à atividade antimicrobiana. Estes extratos e dosagens foram comparados entre si, com a finalidade de padronizar o método de obtenção e avaliar a estabilidade dos extratos.

2.3 Preparação do bioproduto – Depósito de patente nº 000065/23/07/2010 INPI – RIMA, Brasil. Registro PI1002268-6

2.4 Obtenção das frações (F1, F2, F3, F4) do extrato etanólico das flores (EBFL)

O extrato etanólico de flores (EBFL) de *Anacardium occidentale* foi submetido à separação por método químico de acordo com o descrito para a obtenção dos ácidos livres do líquido da casca da castanha de caju (LCC) com algumas modificações (Paramashivappa et al., 2001). O EBFL (10 g) foi solubilizado em metanol e água (90:10). Na solução foram adicionados lentamente e sob agitação constante 5 g de hidróxido de cálcio (MERCK) gerando a formação de precipitados (sais de cálcio). Os precipitados formados (pp) foram separados por filtração à vácuo. Em 5g dos precipitados (pp1+pp2 = 78,09%) solubilizado em 450 mL de água destilada foram adicionados lentamente solução de HCl (37%, Synth), até atingir pH em torno de 3. A mistura reacional final foi extraída em funil de separação com acetato de etila P. A. (Synth, 4 x 250 mL). Em seguida, a fase orgânica foi filtrada e seca com sulfato de sódio anidro (Synth), concentrada sob pressão reduzida (rotaevaporador, Buchi) e o resíduo pesado para determinação do rendimento da reação (produto da reação – 295,1 mg) (Fração F1 - 2,951%). A mistura reacional residual (solução hidrometanólica) do EBFL resultante das filtrações dos precipitados (pp1-pp2) foi alcalinizada com 20 mL de hidróxido de amônia (IACS) até atingir pH 9 e mantida sob agitação por 15 minutos (Corning Stirrer/Hot Plate). Finalizado o tempo de reação a mistura foi extraída em funil de separação com hexano/acetato de etila na proporção 980: 20 (4 x 250 mL). A fase orgânica foi neutralizada com solução de HCl a 5% seguida de água destilada, filtrada e seca com sulfato de sódio anidro e concentrada (rotaevaporador, Buchi) e o produto da reação pesou 240,5 mg (Fração F2 - 2,405%). Antes da mistura residual final ser descartada foi realizado outra extração com acetato de etila puro (250 mL), neutralizada com 100mL de HCl a 5%, seguida de água destilada, filtrada e seca com sulfato de sódio anidro e concentrada (rotaevaporador, Buchi) e o produto da reação pesou 430,6 mg (F3 - 4,303%) (Figura 1).

O extrato bruto de flores (EBFL), as frações de ácidos (F1), a neutra menos polar (F2), a fração acetato de etila (F3) obtidos das reações ácido-base do EBFL e o precipitado (sais de cálcio – F4) foram submetidos aos ensaios microbiológicos e métodos cromatográficos e espectrométricos de análise.

Para os testes microbiológicos foram utilizados 1 mg/mL das frações, filtrados em membrana de 0,20 µm (Sartorius) e armazenados a 4°C, para uso em ensaios *in vitro*.

2.5 Perfis cromatográficos por CLAE/UV da fração ácida (F1) obtida de EBFL de *Anacardium occidentale* e dos padrões ácido chiquímico e mistura de ácidos anacárdicos.

O EBFL, a fração F1 e os ácidos chiquímico e anacárdico padrão foram analisados, por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria na região do ultravioleta (CLAE/UV) em escala analítica. Os cromatogramas foram obtidos em sistema Varian (Pro Star 310, VARIAN Star Workstation, 6.0). Os eluentes utilizados foram: A: água ultrapura (Mille-Q, Millipore) com 0,2% de ácido acético (CH_3COOH , Merck) e B: acetonitrila pura (ACN, grau HPLC, J.T. Baker). Gradiente de eluição: tempo inicial 0 min a 5min, foi utilizada uma mistura de 50% de A e do eluente B. Foi utilizada a coluna HPLC Polaris C-18-A de partícula de 5 μm de diâmetro e dimensões de 250 x 4,6mm. As amostras foram diluídas em água Milli-Q, filtradas (Millex, HV 0, 45 μm , membrana durapore PVDV, 13 mm de diâmetro). O volume injetado da amostra foi de 20 μL e a detecção foi nos comprimentos de ondas (λ) de 212 e 278nm e o fluxo de 1mL.min⁻¹. Os resultados foram expressos em tempo de retenção (T_r) em minutos e as concentrações, expressas em percentagens (%), foram determinadas com base na relação da integral área dos picos.

2.6 Perfil cromatográfico do extrato de flores e fração F1 por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massa (CG/EM)

O EBFL e fração F1 foram derivatizados com BSTFA (bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida) a 30°C, durante 30 minutos, de acordo com Owen et al. (2000a,b) e submetidos às análises em sistema CG/EM (Agilent GC 6890 séries/espectrômetro de massas quadrupolo Agilent MSD 5973N), utilizando coluna de 30m HP5, com espessura de 0,25 mm (Agilent). A temperatura do injetor foi de 250°C e do detector foi de 250°C, até 270 °C. O hélio foi usado como gás de arraste a uma taxa de 1 mL/min⁻¹. A análise foi executada utilizando-se o seguinte programa: 5 min de aquecimento isotérmico a 70 °C, seguido de aumento de temperatura a 5°C, min⁻¹ até 310°C e um minuto final de aquecimento a 310°C. O sistema foi então equilibrado por 6 min a 70 °C antes da injeção automática da próxima amostra. Os espectros de massas foram gravados a 2 scan s⁻¹ com uma taxa de scan de 50 a 600 m/z. Os cromatogramas de íons totais (TIC) e espectros de massas foram avaliados usando o programa Chem Station (Agilent Technologies, EUA). Os picos foram comparados com a NIST Mass Spectral Library e a base Wiley.

2.7. Avaliação da atividade antimicrobiana

2.7.1 Micro-organismos

As cepas foram obtidas da Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro – R.J. *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) e *Candida albicans* (ATCC 18804). As culturas bacterianas foram realizadas em agar e em caldo Brain Heart Infusion (BHI, Difco). *Candida albicans* foi cultivada em agar Sabouraud (Difco). Todas as culturas foram realizadas a 37 °C, por 24 horas. As suspensões microbianas para os testes de susceptibilidade foram preparadas em solução salina estéril (NaCl 0.9%) e a turbidez padronizada na escala 0,5 de McFarland (10^8 UFC/mL) (McFarland, 1907).

2.7.2 Determinação da atividade antimicrobiana por difusão em agar

A atividade antimicrobiana foi determinada pelo método de difusão em agar, empregando-se a técnica das cavidades (Smânia et al., 1999). Para os ensaios microbiológicos *in vitro*, 20 g de cada extrato liofilizado foi ressuspenso em 100 mL de água destilada estéril, esterilizado por filtração em membrana de 20 µm (Sartorius).

Foram utilizadas placas de agar BHI para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* e de agar Sabouraud-Dextrose para *C. albicans*, nas quais foram realizadas perfurações (poços) de 5 mm de diâmetro. As suspensões microbianas padronizadas foram semeadas com auxílio de um swab estéril e foi adicionado, em diferentes cavidades, alíquotas de 25 µL dos extratos das flores e dos controles. Etanol absoluto foi empregado como controle do solvente, gluconato de clorexidina a 0,12% foi utilizada como controle positivo para as bactérias, fluconazol (128,0 µg/mL) para o fungo e água destilada foi usada como controle negativo. As placas foram incubadas a 37°C, por 1 hora, sendo que as placas com agar BHI foram incubadas em presença de 5% de CO₂, a 37°C, por 48 horas e as placas com agar Sabouraud foram incubadas em aerobiose, por 24 horas. Os ensaios foram feitos em triplicatas. Ao final foi realizada a leitura e a medida dos halos de inibição expressas em milímetros.

2.7.3 Determinação da concentração bactericida e da concentração fungicida mínima

A determinação da concentração bactericida mínima (CBM) e da concentração fungicida mínima (CFM) foi realizada pela técnica de diluição em caldo (Smânia et al., 1999), empregando-se diluições seriadas do extrato etanólico das flores (EBFL) conforme atividade

antimicrobiana em caldo BHI. Após a diluição do EBFL (2000 µg/mL a 31,25 µg/mL) cada tubo recebeu 1 µL da suspensão microbiana (10^8 UFC/mL). Os tubos foram incubados a 37°C, por 24h. Em seguida, o conteúdo dos tubos foi repicado em placas de agar BHI (para as bactérias) e agar Sabouraud (para fungo). Foram consideradas como CBM e CFM a menor concentração do extrato onde não ocorreu crescimento microbiano.

A determinação da concentração bactericida mínima (CBM) do bioproduto, em forma gel, desenvolvido a base do extrato etanólico de flores de *A. occidentale* foi realizada pela técnica de diluição em caldo (Smânia et al., 1999), empregando-se diluições seriadas do gel em caldo BHI nas concentrações de 60 mg/mL, 100 mg/mL e 200 mg/mL para *S. mutans*. Cada tubo recebeu 1 µL da suspensão microbiana (10^8 UFC/mL). Os tubos foram incubados a 37°C por 24 horas. Em seguida, os tubos foram repicados em placas de agar BHI. Após as incubações a 37°C, as placas foram inspecionadas para a evidência do crescimento microbiano. Foram consideradas CBM as menores concentrações do produto onde não houve crescimento microbiano.

2.8 Inibição da viabilidade do biofilme de *Streptococcus mutans*

Com base na CBM, foi avaliado o efeito do EBFL sobre a viabilidade de biofilme de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), conforme descrito previamente (Koo et al., 2002), com algumas modificações. Placas de poliestireno de 24 cavidades (Nunc) contendo 1 mL de *Tryptone-yeast Extract Broth*, suplementado com sacarose a 1%, foram inoculadas com 10^6 UFC/mL de *S. mutans*. O meio foi trocado a cada 24h, até 96 horas, quando o sobrenadante foi removido e o biofilme tratado com o EBFL a 1% em caldo peptonado, em concentração equivalente a quatro vezes a CBM. O poço controle recebeu apenas caldo peptonado a 1% (Koo et al., 2002). Nos intervalos de 30, 60, 120 e 180 minutos, o EBFL foi aspirado, o biofilme lavado três vezes com solução salina a 0,9% estéril, raspado e ressuspensão em 1 mL de caldo peptonado a 1%. Ao final a suspensão foi submetida ao ultrassom (Thornton, Modelo T7, Brasil) a 50 W, duas vezes, com três pulsos de dez segundos, e intervalo de cinco segundos. Após homogeneização (QL-901, Biomixer) a suspensão foi diluída (10^{-1} a 10^{-4}) em PBS (*phosphate-buffered saline*, pH 7.2). Alíquotas de 100 µL de cada diluição foram inoculadas em placas de agar sangue (agar + sangue de carneiro a 5%).

As placas foram incubadas em presença de 5% de CO₂, a 37 °C, por 48 horas. Ao final foi determinado o número de unidades formadoras de colônia (UFC/mL), transformados em

Log₁₀ para análise. Todos os ensaios foram feitos em quadruplicata. Foi considerado efeito bactericida o tempo de contato com o extrato com redução ≥ 3 Log₁₀ da UFC/mL, em relação à contagem inicial (Koo et al., 2002). Clorexidina a 0,12% foi incluída como controle positivo nas mesmas condições (Koo et al., 2002).

2.9 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada com auxílio do Programa Stata 10.0 (Stata Corporation, College Station, Texas, USA). As variáveis foram expressas como média $\pm$ desvio padrão e analisadas pelos testes de Mann-Whitney nas comparações entre duas variáveis, ou Kruskal-Wallis para múltiplas comparações. Utilizou-se também o Teste de Dunn como Pós-testes. O nível de significância foi pré-estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

3.1 Atividade antimicrobiana

O teste de susceptibilidade por difusão em agar revelou a atividade antimicrobiana do EBFL de *A. occidentale* a partir da formação de halos de inibição de crescimento que variaram de 16 a 20,7 mm de diâmetro. O maior halo foi observado para *Streptococcus mutans*. A clorexidina, usada como controle positivo apresentou halos de inibição de 25 mm e 20 mm para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, respectivamente. O fluconazol utilizado como controle positivo para *C. albicans* apresentou halo de inibição de 15,7 mm (Tabela 1).

Diluições seriadas do EBFL mostraram efeito dose-dependente, com halos que variaram de 16 a 10,7 mm nas diluições de 50 a 12,5 mg/mL para *Streptococcus mutans*; 13,7 a 9,7 mm para *Lactobacillus acidophilus* e 14 a 9 mm para *C. albicans* (Tabela 2).

A tabela 3 mostra que a concentração bactericida mínima (CBM) do EBFL foi de 2,5 mg/mL para *Streptococcus mutans* e 5 mg/mL para *Lactobacillus acidophilus* e a CFM foi de 20 mg/mL para *Candida albicans*.

A tabela 4 mostra que a concentração bactericida mínima (CBM) do bioproduto foi de 6, 5 e 3 mg/mL para *Streptococcus mutans* nas concentrações de 60, 100 e 200 mg/mL do produto, respectivamente.

A tabela 5 mostra que das quatro frações obtidas somente a fração F1 apresentou ação antimicrobiana para *S. mutans*, *L. acidophilus* e *C. albicans* com halos de inibição compatíveis com os detectados nos controles positivos clorexidina e fluconazol.

3.2 Inibição da viabilidade do biofilme de *Streptococcus mutans*

A avaliação do efeito de EBFL foi também realizada sobre o biofilme de *Streptococcus mutans*. Os efeitos inibitórios do EBFL sobre a viabilidade bacteriana foram semelhantes ao da clorexidina utilizada como padrão. Reduções significativas na contagem de colônias foram observadas após 30 minutos de tratamento em comparação com os ensaios realizados com o controle negativo (água peptonada) ($p < 0.05$). O efeito bactericida foi evidenciado em duas horas de tratamento, uma vez que foram obtidas reduções superiores a 3Log_{10} em relação à contagem obtida com o controle negativo no mesmo período. Em todos os intervalos os dados do extrato foram semelhantes aos da clorexidina (Figura 2).

3.3 Análise da composição química e perfil cromatográfico do extrato de flores (EBFL) e fração F1

A tabela 6 mostra os compostos presentes tanto no EBFL como em sua fração ativa (F1). Foram identificados no extrato: ácido fosfórico, ácido dodecanoico, ácido hexadecanoico, ácido octadecanoico e o ácido 1,2-benzenodicarboxílico. Na fração ativa F1 foram identificados os seguintes compostos: ácido fosfórico, ácido benzoico, ácido chiquímico, frutose, glicose, ácido etilgálico, sorbitol, ácido gálico, ácido hexadecanoico, mio-inositol e o ácido octadecanoico.

O ácido chiquímico isolado do extrato das flores (Figura 3A) foi comparado (hit) com o espectro do ácido chiquímico da base de dados NIST (Figura 3B) após sialinização e análise CG/EM apresentou para o ácido chiquímico: pico de $T_r = 22.551\text{min.}$, dados de m/z (%): 204 (100); 73 (42); 205 (18,8); 255 (0,93); 73 (42); 357 (0,9); 206 (0,82); 254 (0,6) e 133 (0,4%).

O ácido etilgálico foi identificado na fração ativa F1 do EBFL de *A. occidentale*. No espectro de HRMN (DX-500 Bruker em CD_3OD metanol deuterado observa-se que a fração ativa contém o ácido gálico metilado e etilado, sendo que o etilado é majoritário, mas a fração ativa F1 não está pura, existem ainda outros compostos (Figura 4).

3.4 Perfis cromatográficos por CLAE/UV da fração ácida (F1) em comparação ao ácido chiquímico e a mistura de ácidos anacárdicos.

O cromatograma da fração ácida F1 obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/UV) no comprimento de onda de 212nm, foi avaliado com base no comprimento de onda do cromóforo do padrão ácido chiquímico (Sigma-Aldrich, $\lambda=212$ nm, $Tr= 3,7$ min) (Figura 5A). A fração F1 (Figura 5B) apresentou perfil cromatográfico com dois picos majoritários, com tempo de retenção (Tr) de 2.759 minutos e percentagem (%) de 30,72 e 4.653 minutos com 41,61%. O extrato bruto de flores (EBFL) (Figura 5C) apresentou perfil com picos na faixa entre 3 minutos e 10 minutos. O componente detectado no $Tr= 3.517$ minutos, o mais polar tem 11,03%, e os picos majoritários a $Tr= 5.476$ min (27,84%), 6.549 minutos (18.86%), 8.016 minutos (16,69%).

O perfil cromatográfico do EBFL (Figura 6B) obtido nas mesmas condições de eluição e detecção a $\lambda=278$ nm, do cromóforo dos ácidos anacárdicos (padrão Sigma-Aldrich, $\lambda=278$ nm, $Tr= 18.936$ minutos (ácido anacárdico 1), $Tr=20.186$ minutos (ácido anacárdico 2) e $Tr=21.226$ minutos (ácido anacárdico 3) (Figura 6A), no comprimento de onda de 212 nm (Figura 6C), apresentou semelhança em tempo de retenção dos picos detectados, embora com diferenças quanto a intensidade.

4 DISCUSSÃO

No presente estudo foi detectado um potente efeito antimicrobiano do extrato etanólico preparado com as flores de *A. occidentale* sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Candida albicans*. Efeitos compatíveis com os obtidos com a clorexidina e com o fluconazol, compostos considerados padrão no controle de bactérias e fungos orais, respectivamente. Comparativamente, os resultados mostraram uma maior efetividade do EBFL sobre *Streptococcus mutans* do que sobre os outros dois micro-organismos, sugerindo o seu potencial na prevenção da instalação do processo cariogênico ou no controle do biofilme dentário já instalado. Particularmente, porque *Streptococcus mutans* é considerado o principal fator etiológico da cárie dental devido à sua virulência (Hamada; Slade, 1980; Loesche, 1986; Caufield, 1997; Hamilton-Miller, 2001) e também por ser o responsável pelo início da lesão cariosa (Loesche, 1986; Lenander-Lumikari et al., 2000).

Avaliamos comparativamente dois extratos obtidos das flores de *A. occidentale*, em anos diferentes. Além disso, testamos por dois anos consecutivos a eficácia quanto à ação antimicrobiana cada um dos extratos. Todos os resultados foram semelhantes quanto à atividade antimicrobiana mostrando que a atividade biológica ficou preservada, com similar magnitude, durante 2 anos, em extratos mantidos a 4 °C, em frascos escuros.

A clorexidina foi empregada como controle positivo em todos os ensaios com as bactérias cariogênicas, pois é o agente antimicrobiano mais indicado em odontologia, quando se trata do controle do biofilme dentário e de outras doenças da cavidade oral, devido à sua elevada atividade antimicrobiana (Bowden, 1996; Jones, 1997; Eley, 1999; Kulkarni; Damle, 2003). Contudo, a clorexidina apresenta vários efeitos colaterais (Moran et al., 1992; Bowden, 1996; Eley, 1999). Daí a necessidade de investigação de compostos alternativos, com eficácia de similar magnitude, para uso na prática clínica.

Streptococcus mutans são encontrados na cavidade bucal como células planctônicas e como células organizadas em biofilme (Resende, 2007). Nos ensaios *in vitro* os micro-organismos em estado planctônico são mais sensíveis que aqueles em biofilmes (Marsh, 2004). Assim, as principais vantagens de avaliar a atividade de antimicrobiana sobre o biofilme se deve a uma menor interferência do estresse ambiental, que é mais moderado, por causa da alta densidade populacional, resistência aos agentes deletérios e presença de matriz extracelular, que atua como barreira física, contra variações físico-químicas no meio modificando a suscetibilidade aos antimicrobianos (Gilbert et al., 1997, Costerton et al., 1999). Ainda assim, o extrato de flores de *Anacardium occidentale* foi capaz de reduzir significativamente a população de *Streptococcus mutans* no biofilme, com apenas 30 minutos de tratamento, com eficácia semelhante à clorexidina, usada como controle positivo.

São escassos os dados acerca da atividade antimicrobiana das flores de *Anacardium occidentale* sobre bactérias cariogênicas e sobre levedura do gênero *Candida*, embora resultados utilizando extratos de fruto, pseudofruto, folhas e/ou casca do caule, sejam bastante numerosos (Himejima; Kubo, 1991; Muroi; Kubo, 1993; Muroi et al., 1993; Kubo et al., 2003; Schmourlo et al., 2005; Braga et al., 2007). Em geral a atividade antimicrobiana tem sido atribuída a presença dos ácidos anacárdicos, cardol e cardanol (Kubo et al., 1986; Paramashivappa et al., 2001; Kasemura et al., 2002; Trevisan et al., 2006), uma vez que estes

compostos, embora por mecanismos de ação ainda não completamente elucidados, têm comprovada ação antimicrobiana (Cowan, 1999; Iwu et al., 1999).

Alguns dos compostos identificados por cromatografia CG/EM no extrato bruto das flores e sua fração F1 tais como os ácidos gálico, benzoico, dodecanoico, octadecanoico e hexadecanoico foram anteriormente identificados no pseudofruto (Bicalho et al., 2000; Bicalho; Rezende 2001; Michodjehoun-Mestres et al., 2009; Gómez-Caravaca et al., 2010) e no fruto (Maia et al., 2000).

A análise dos perfis cromatográficos obtidos por CLAE/UV do extrato bruto de flores e da fração F1 mostrou que nas condições de análises o ácido chiquímico está presente em pequena concentração, enquanto que os ácidos anacárdicos não foram detectados. Os ensaios *in vitro* realizados com ácido chiquímico (Sigma-Aldrich) não apresentaram atividade antimicrobiana contra *S. mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *C. albicans*. Assim, com base no perfil cromatográfico do extrato e da fração é razoável inferir que a atividade antimicrobiana não está relacionada nem ao ácido chiquímico nem aos ácidos anacárdicos, mas sim a presença de outros compostos que isoladamente ou em associação exercem atividade anticárie semelhante a clorexidina.

5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos conclui-se que o extrato bruto das flores de *Anacardium occidentale* apresenta efeito anticárie devido sua efetividade sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Candida albicans* indicando que há nas flores compostos que podem ser alvo de produtos eficazes no tratamento de cárie e outras afecções orais.

REFERÊNCIAS

- Arendorf, T.M., Walker, D.M., 1980. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. Archives of Oral Biology 25, 1-10.
- Autio-Gold, J., 2008. The role of chlorhexidine in caries prevention. Operative Dentistry 33, 710–716.
- Bicalho, B., Pereira, A.S., Aquino Neto, F.R., Pinto, A.C. Rezende, C.M., 2000. Application of high temperature gas chromatography-massspectrometry to the investigation of glycosidically bound componentes related to cashew apple (*Anacardium occidentale* L. var. *Nanum*) volatiles. Journal of Agriculture Food Chemistry 48, 1167-1174.
- Bicalho, B., Rezende, C.M., 2001. Volatile compounds of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). Zeitschrift für Naturforschung 56, 35-39.
- Bowden, G.H., 1996. Mutans streptococci carie and chlorhexidine. Journal of the Canadian Dental Association 62, 700-707.
- Braga, F.G., Bouzada, M.L.M., Fabri, R L., Matos, M.O., Moreira, F.O., Scio, E., Coimbra, E.S., 2007. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. Journal of Ethnopharmacology 111, 396-402.
- Brasil. Ministério da Saúde. Condições de saúde bucal na população brasileira. Projeto SB Brasil 2003: resultados principais. Brasília: Ministério da Saúde, 2007.
- Caufield, P.W., 1997. Dental caries: a transmissible and infectious disease revisited: a position paper. Pediatric Dentistry 19, 491-498.
- Costa, C.C., Costa Filho, L.C., Sória, M.L., Mainard, A.P.R., 2001. Análise comparativa da remoção de placa bacteriana pelas escovações manual e elétrica, em crianças com dentição mista. Jornal Brasileiro de Odontopediatria & Odontologia do bebê 4, 473-478.
- Costerton, J.W., Philip, S.S., Greenberg, E.P., 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science 284, 1318-1322.
- Cowan, M.M., 1999. Plant Products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews 12, 564-582.
- Dahake, A.P., Joshi, V.D., Joshi, A.B., 2009. Antimicrobial screening of different extract of *Anacardium occidentale* Linn. Leaves. International Journal of Chem Tech Research 1, 856-858.
- Eley, B.M., 1999. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque - a review. British Dental Journal 186, 286-296.

- Featherstone, J.D., 2000. The science and practice of caries prevention. *Journal of the American Dental Association* 131, 887–899.
- Fernandes, F.R.C., Guedes-Pinto, A.C. Cárie dentária. In: Guedes-Pinto, A.C. *Odontopediatria*. 5.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1995. p.353-381.
- Gilbert, P., Das, J., Foley, I., 1997. Biofilm susceptibility to antimicrobials. *Advances in Dental Research* 11, 160-167.
- Gómez-Caravaca, A.M., Verardo, V., Caboni, M.F., 2010. Chromatographic techniques for the determination of alkyl-phenols, tocopherols and other minor compounds in raw and roasted cold pressed cashew. *Journal of Chromatography A* 1217, 7411-7417.
- Hamada, S., Slade, H.D., 1980. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiological Reviews* 44, 331-384.
- Hamilton-Miller, J.M.T., 2001. Anti-cariogenic properties of tea (*Camellia sinensis*). *Journal of Medical Microbiology* 50, 299-302.
- Himejima, M., Kubo, I., 1991. Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39, 418-421.
- Iwu, M.W., Duncan, A.R., Okunji, C.O. New antimicrobials of plant origin. In: Janick, J. (ed.) *Perspectives on New Crops and New Uses*. ASHS Press, Alexandria, V.A., 1999, 457-462.
- Järvensivu, A., Hietanen, J., Rautemma, R., Sorsa, T., Richardson, M., 2004. *Candida* yeast in chronic periodontitis tissues and subgingival microbial biofilms *in vivo*. *Oral Diseases* 10, 106-112.
- Jones, C.G., 1997. Chlorhexidine: is it still the gold standard? *Periodontol* 2000 15, 55-62.
- Kannan, V.R., Sumathi, C.S., Balasubramanian, V., Ramesh, N., 2009. Elementary chemical profiling and antifungal properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) nuts. *Botany Research International* 2, 253-257.
- Kasemura, K., Nomura, M., Tada, T., Fujihara, Y., Shimomura, K., 2002. Antimicrobial and tyrosinase inhibitory activities of 6-[(8Z)-8-Pentadecenyl] salicylic acid derivatives. *Journal of Oleo Science* 51, 637-642.
- Koo, H., Pearson, S.K., Scott-Anne, K., Abranches, J., Cury, J.A., Rosalen, P.L., Park, Y.K., Marquis, R.E., Bowen, W.H., 2002. Effects of apigenin and tt-farnesol on glucosyltransferase activity, biofilm viability and caries development in rats. *Oral Microbiology and Immunology* 17, 337–343.

- Kubo, I., Komatsu, S., Ochi, M., 1986. Molluscicides from the cashew *Anacardium occidentale* and their large-scale isolation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 34, 970-973.
- Kubo, I., Nihei, K., Tsujimoto, K., 2003. Antibacterial action of anacardic against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7624-7628.
- Kulkarni, V.V, Damle S.G., 2003. Comparative evaluation of efficacy of sodium fluoride, chlorhexidine and triclosan mouth rinses in reducing the *mutans streptococci* count in saliva: an *in vivo* study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* 21, 98-104.
- Lenander-Lumikari, M., Ihalin, R., Lahteenoja, H., 2000. Changes in whole saliva in patients with coeliac disease. *Archives of Oral Biology* 45, 347-354.
- Leverett, D.H., Proskin, H.M., Featherstone, J.D., Adair, S.M., Eisenberg, A.D., Mundorff-Shrestha, S.A., Shields, C.P., Shaffer, C.L., Billings, R. J., 1993. Caries risk assessment in a longitudinal discrimination study. *Journal of Dental Research* 72, 538-543.
- Loesche, W.J., 1986. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiological Reviews* 50, 353-380.
- Macedo, N.L., Lacaz-Neto, R.L. Manual de higienização bucal: motivação dos pacientes. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora de Publicações Médicas, 1983. p.13-22.
- Mackeen, M.M., Ali, A.M., El-Sharkawy, S.H., Manap, M.Y., Salleh, K.M., Lajis, N.H., Kawazu, K., 1997. Antimicrobial and cytotoxic properties of some Malaysian traditional vegetables (Ulam). *International Journal of Pharmacognosy* 35, 174-178.
- Maia, J.G.S., Andrade, E.H. A., Zoghbi, M.G.B., 2000. Volatile constituents of the leaves, fruits and flowers of cashew (*Anacardium occidentale*). *Journal of Food Composition and Analysis* 13, 227-232.
- Marques, M.R., Albuquerque, L.M.B., Xavier-Filho, J., 1992. Antimicrobial and insecticidal activities of cashew tree gum exudate. *Annals Applied Biology* 121, 371-377.
- Marsh, P.D., 2004. Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries Research* 38, 204-211.
- Marsh, P.D., 1999. Microbiologic aspects of dental plaque and dental caries. *Dental Clinics of North America* 43, 599–614, v–vi.
- .

- McFarland, J., 1907. The nephelometer: an estimating the number of bacteria in suspensions for calculating the opsonic index and vaccines. *Journal of the American Medical Association* 49, 1176.
- Melo, A.F.M., Santos, E.J.V., Souza, L.F.C., Carvalho, A.A.T., Pereira, M.S. V., Higino, J.S., 2006. *In vitro* antimicrobial activity of an extract of *Anacardium occidentale* L. against *Streptococcus* species. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 16, 202-205.
- Michodjehoun-Mestres, L. Souquet, J. M., Fulcrand, H., Bouchut, C., Reynes, M., Brillouet, J. M., 2009. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chemistry* 112, 851—857.
- Moran, J., Addy, M., Roberts, S., 1992. A comparison of natural product, triclosan and chlorexidine mouthrinses on 4-day plaque regrowth. *Journal of Clinical Periodontology* 19, 578-582.
- Muroi, H., Kubo, I., 1993. Bactericidal activity of anacardic acids against *Streptococcus mutans* and their potentiation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41, 1780-1783.
- Muroi, H., Kubo, A., Kubo, I., 1993. Antimicrobial activity of cashew apple flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1106-1109.
- Nikawa, H., Hamada, T., Yamashiro, H., Murata H., Subiwahjudi, A., 1998. The effect of saliva or serum on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* colonization of hydroxyapatite beads. *Journal of Dentistry* 26, 31-37.
- Oliveira, F., Akisue G., Akisue, M. K., 1991. *Farmacognosia*. São Paulo: Atheneu, 426p.
- O'Sullivan, J.M., Jenkinson, H.F., Cannon, R.D., 2000. Adhesion of *Candida albicans* to oral streptococci is promoted by selective adsorption of salivary proteins to the streptococcal. *Microbiology* 146, 41-44.
- Owen, R.W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., 2000a. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology* 38, 647-659.
- Owen, R.W., Giacosa, A., Hull, W.E., Haubner, R., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., 2000b. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer* 36, 1235-1247.

- Paramashivappa, R., Kumar, P.P., Vithayathil, P.J., Rao, A.S., 2001. Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 2548-2551.
- Ramage, G., Saville, S.P., Thomas, D.P., López-Ribot, J.L., 2005. *Candida* biofilms: an update. *Eukaryotic Cell* 4, 633–638.
- Resende, L.G. Viabilidade de *Streptococcus mutans* após tratamento com clareadores dentais. 2007. 70f. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2007.
- Schmourlo, G., Mendonça-Filho, R. R., Alviano, C.S., Costa, S.S., 2005. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. *Journal of Ethnopharmacology* 96, 563-568.
- Selwitz, R.H., Ismail, A.I., Pitts, N.B., 2007. Dental caries. *Lancet* 369, 51–59.
- Smania, A.Jr., Delle Monache, F., Smania, E.F.A., Cuneo R.S., 1999. Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (Aphyllphoromycetideae) Fruit body. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 1, 325-330.
- Torres, C.R.G., Kubo, C.H., Anido, A.A., Rodrigues, J.R., 2000. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia. *Pós-Graduação Revista da Faculdade de odontologia de São José dos Campos* 3, 43-52.
- 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, 188-197.
- Von Hertwig, I.F. Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem e comercialização. 2.ed. São Paulo: Ícone, 1991. 414 p.
- Zanatta, F.B., Rösing, C K., 2007. Clorexidina: mecanismo de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival. *Scientific-A* 1, 35-43.

TABELAS

Tabela 1 - Susceptibilidade microbiana por difusão em agar do extrato de flores de *A. occidentale* sobre micro-organismos orais.

Micro-organismos	Halos de inibição (mm)			p ^a
	Extrato das Flores	Clorexidina	Fluconazol	
<i>Streptococcus mutans</i>	20,7 ± 0,58 ^b	25 ± 1	NR ^c	0.045
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	16 ± 0,58	20 ± 1,52	NR	0.046
<i>Candida albicans</i>	16 ± 1	NR	15,7 ± 0,58	0.317

(a) Valor de p - Mann-Whitney;

(b) Média ± Desvio padrão de amostras testadas em triplicata

(c)NR - Não Realizado.

Tabela 2 - Atividade antimicrobiana de diluições seriadas do extrato bruto de flores (EBFL) de *Anacardium occidentale* L. sobre micro-organismos orais.

Micro-organismos	Concentração do extrato (mg/mL)						p ^b
	100	50	25	12,5	Clorexidina	Fluconazol	
<i>S. mutans</i>	20,7 ± 0,58 ^a	16 ± 1	13 ± 1	10,5 ± 0,5	25 ± 1	NR ^c	0,008
<i>L. acidophilus</i>	16 ± 0,58	13,7 ± 1,15	11,3 ± 1,53	9,67 ± 0,58	20,5 ± 3,04	NR	0,011
<i>C. albicans</i>	16 ± 0,58	14,3 ± 0,58	12 ± 1	9 ± 1	NR	16 ± 1	0,007

(a) Média ± Desvio padrão do halo de inibição (mm) das concentrações indicadas estatisticamente diferente do halo médio da droga padrão após o teste de Dunn;

(b) Valor de p.

(c) NR - Não Realizado.

Tabela 3 - Concentração Bactericida e Fungicida Mínima do extrato de flores de *Anacardium occidentale* sobre *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Candida. albicans*.

Micro-organismos	CBM (mg/mL)	CFM (mg/mL)
<i>Streptococcus mutans</i>	2,5	NR*
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	NR
<i>Candida albicans</i>	NR	20

*NR: Avaliação não realizada

Tabela 4 - Concentração bactericida mínima do gel de flores de *A. occidentale* sobre *Streptococcus mutans*

Produto/Concentração (mg/mL)	CBM (mg/mL)
60	6
100	5
200	3

Tabela 5 - Atividade antimicrobiana de frações do extrato de flores de *A. occidentale* sobre micro-organismos orais.

		Halos de inibição (mm)					
		Frações			Controles		
Micro-organismos	F1	F2	F3	F4	Clorexidina	Fluconazol	p ^a
<i>Streptococcus mutans</i>	17 ± 0,1 ^b	SI ^c	SI	SI	17 ± 0,4	NR ^d	-
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	22 ± 2,0	SI	SI	SI	16 ± 0,1	NR	0,083
<i>Candida albicans</i>	15 ± 1,0	SI	SI	SI	NR	16 ± 1	0,683

(a) Valor de *p* - Mann-Whitney

(b) Média ± Desvio padrão dos halos

(c) SI: Sem halo de inibição

(d) NR: Não Realizado.

Tabela 6 - Compostos identificados por Cromatografia CG/EM no extrato etanólico bruto e na fração (F1) de flores de *A. occidentale* L.

Tr (min)	Extrato das flores	Tr (min)	Fração F1
7,704	Ácido fosfórico	7,726	Ácido fosfórico
16,909	Ácido dodecanoico	22,357	Ácido benzoico
		22,543	Ácido chiquímico
		22,783	Frutose
		23,637	NI
		24,224	NI
		24,384	NI
		24,704	Glicose
		25,437	Ácido etilgálico
		25,704	Sorbitol
		25,837	Glicose
		25,984	Ácido gálico
		27,024	Açúcar NI
27,52	Ácido hexadecanoico	27,531	Ácido hexadecanoico
		29,292	Mio-inositol
		29,745	NI
		31,746	NI
31,904	Ácido octadecanoico	31,892	Ácido octadecanoico
33,556	*NI		
37,872	ácido 1,2-benzenodicarboxílico		
		50,511	NI
		53,325	NI
50,545	NI		

NI– Compostos não identificados

FIGURAS

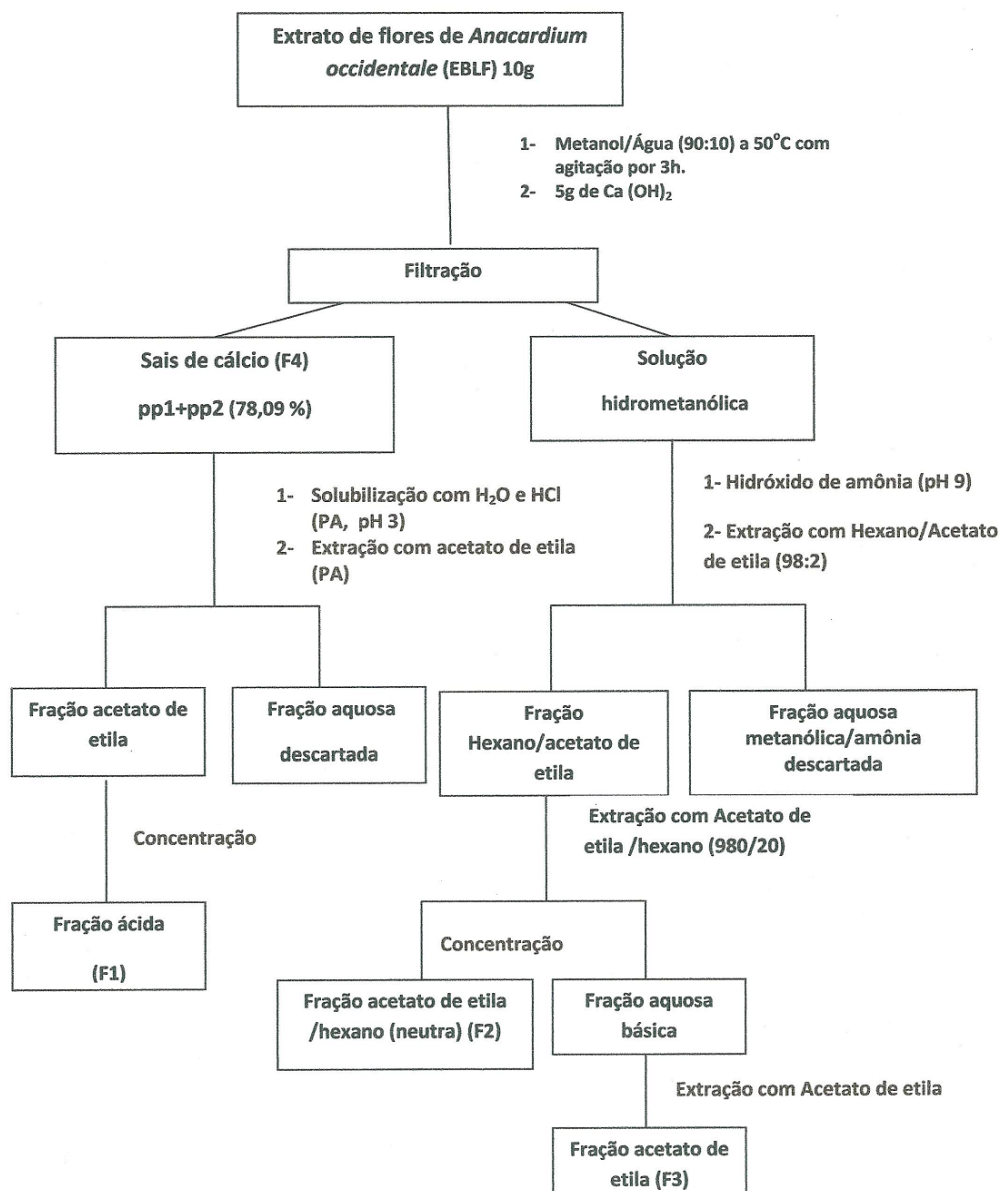


Figura 1 - Fluxograma de obtenção de frações do extrato etanólico de flores (EBFL) de *Anacardium occidentale* L.

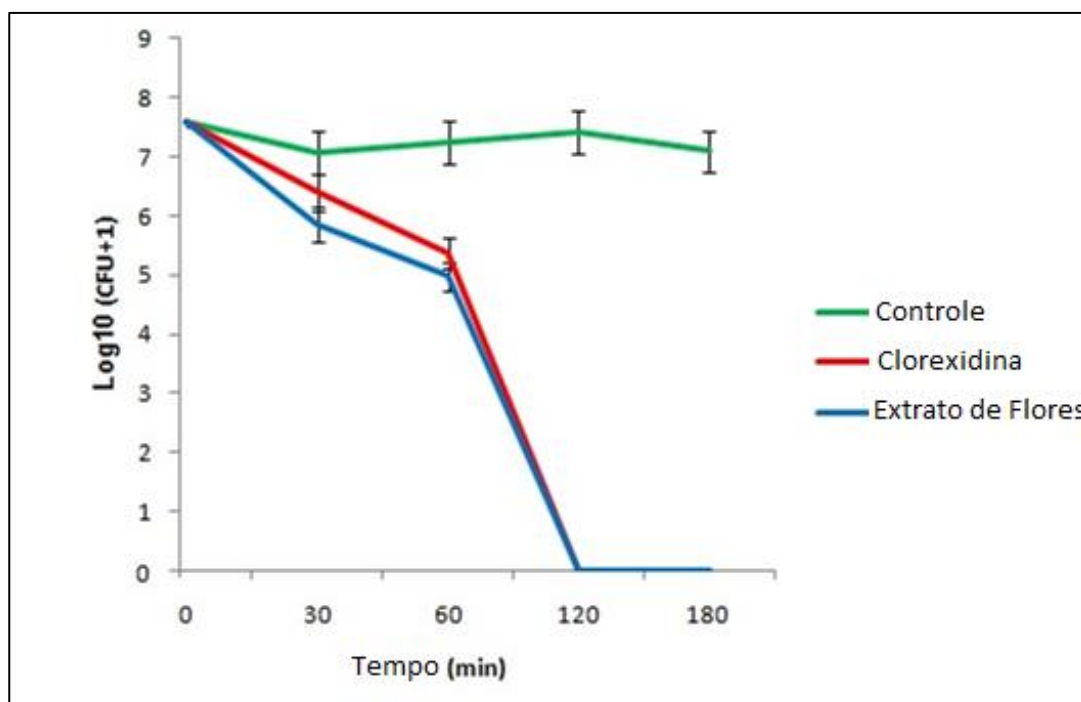


Figura 2 – Atividade antimicrobiana do extrato bruto de flores de *Anacardium occidentale* sobre o biofilme de *Streptococcus mutans*. Reduções significativas na contagem de colônias ocorreram após 30 minutos de tratamento em comparação com os ensaios realizados com o controle negativo ($p < 0,05$). O efeito bactericida foi evidenciado em 2 horas, uma vez que foram obtidas reduções superiores a 3 Log₁₀ em relação à contagem obtida com o controle negativo no mesmo período. Em todos os intervalos os dados do extrato de flores foram semelhantes aos da clorexidina.

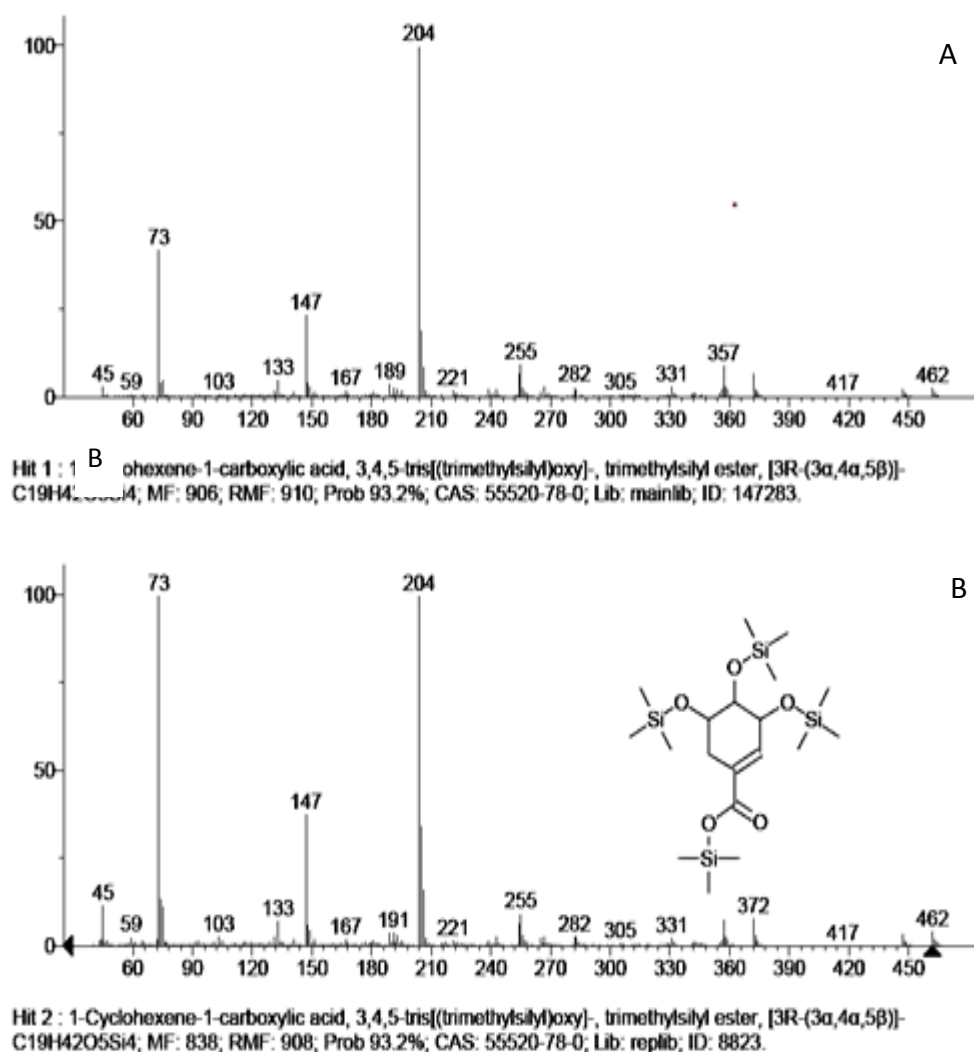


Figura 3 - Espectro de massa do ácido chiquímico identificado no extrato de flores (EBFL) de *Anacardium occidentale* (A) comparado (hit) com o espectro do ácido chiquímico da base de dados NIST (B).

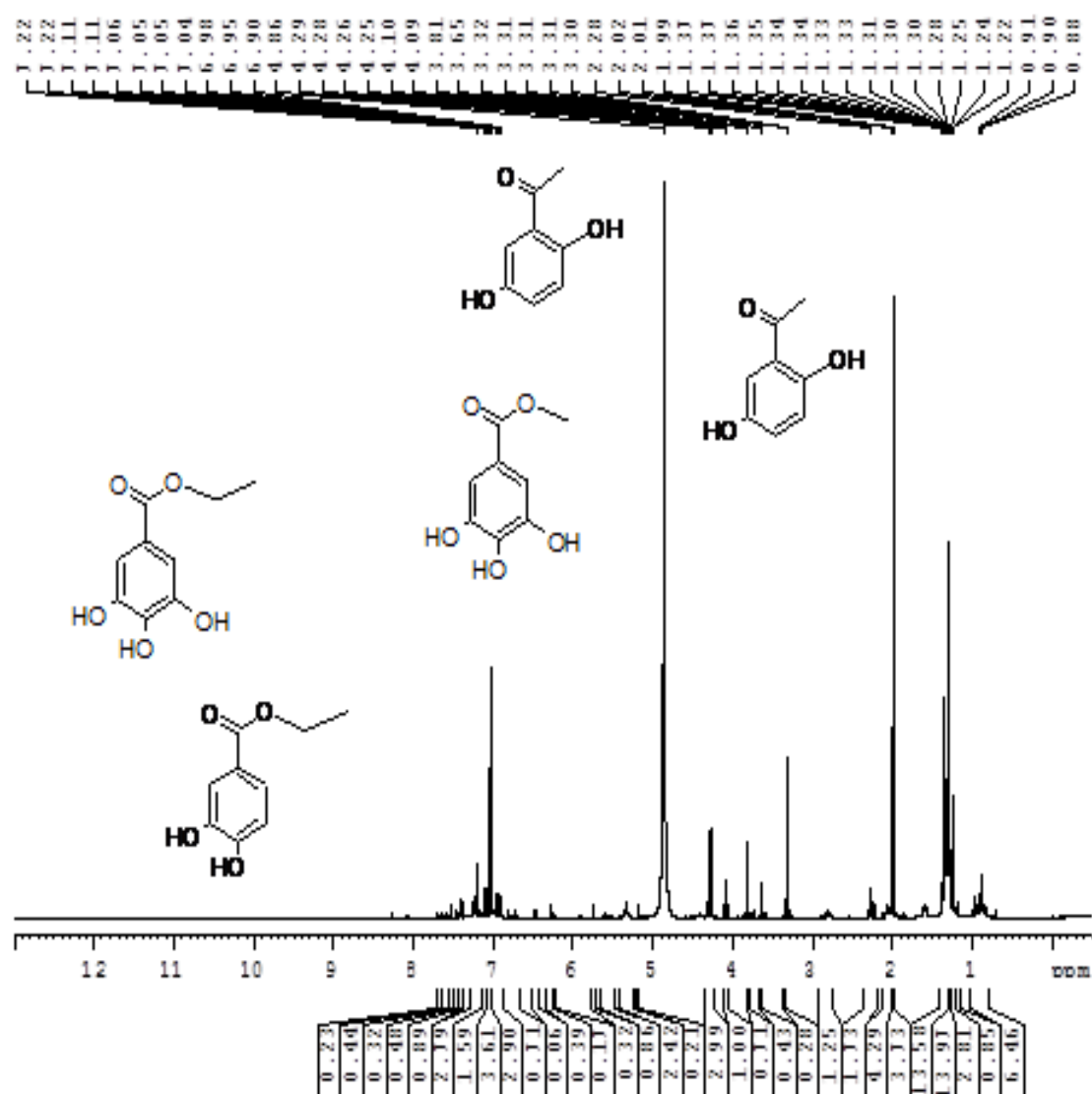


Figura 4 - Espectro de ^1H RMN (500 MHz DX-500 Bruker em CD_3OD (Metanol deuterado)). Neste espectro a fração ativa do extrato das flores de *A. occidentale* contém o ácido gálico metilado e etilado, sendo que o etilado é majoritário. Existem os sinais de deslocamento químico expressos em δ dos H do anel aromático, dois sinais triplos da metila com δ ou ppm do CH_3 do radical etila, sinal simples da metila e H_2O do solvente.

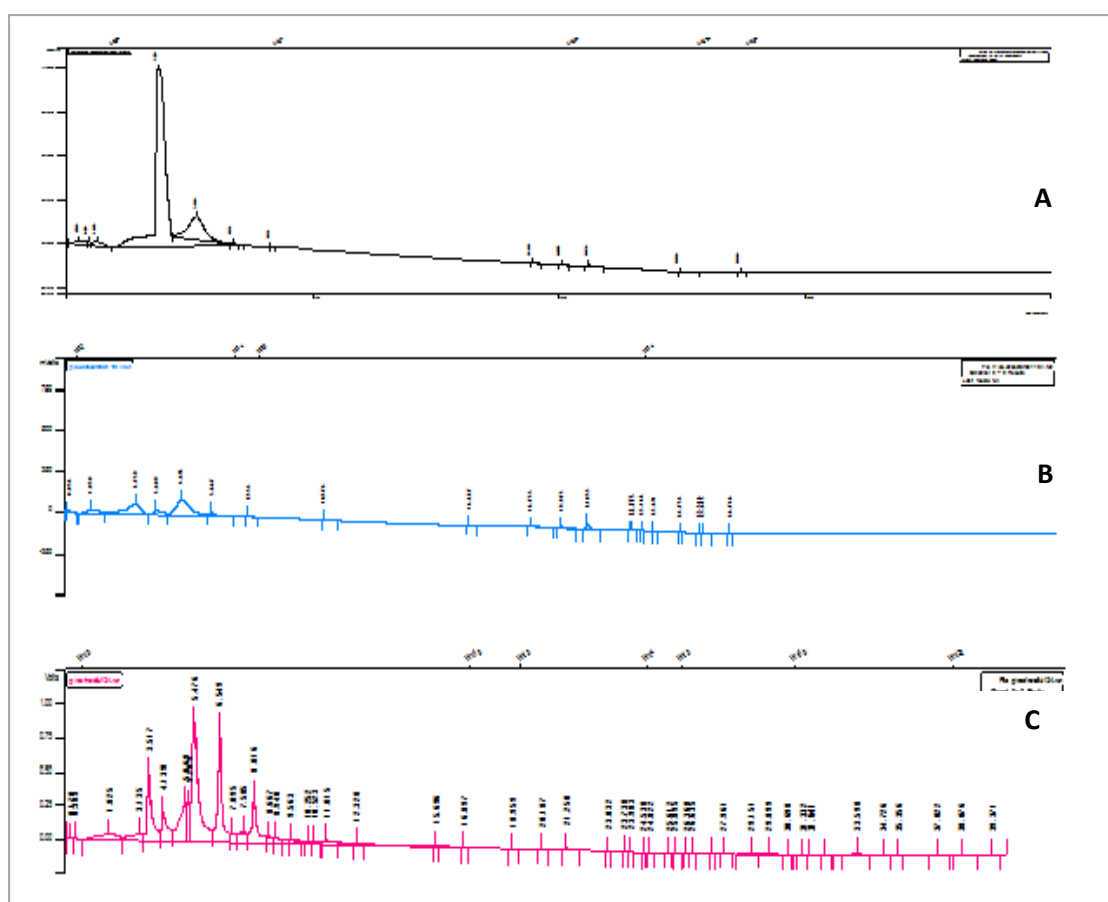


Figura 5 – Perfil cromatográfico (HPLC/UV), detecção 212nm. Perfil cromatográfico do ácido chiquímico (Sigma – Aldrich) (A), da fração F1 (B) e do extrato bruto de flores (C).

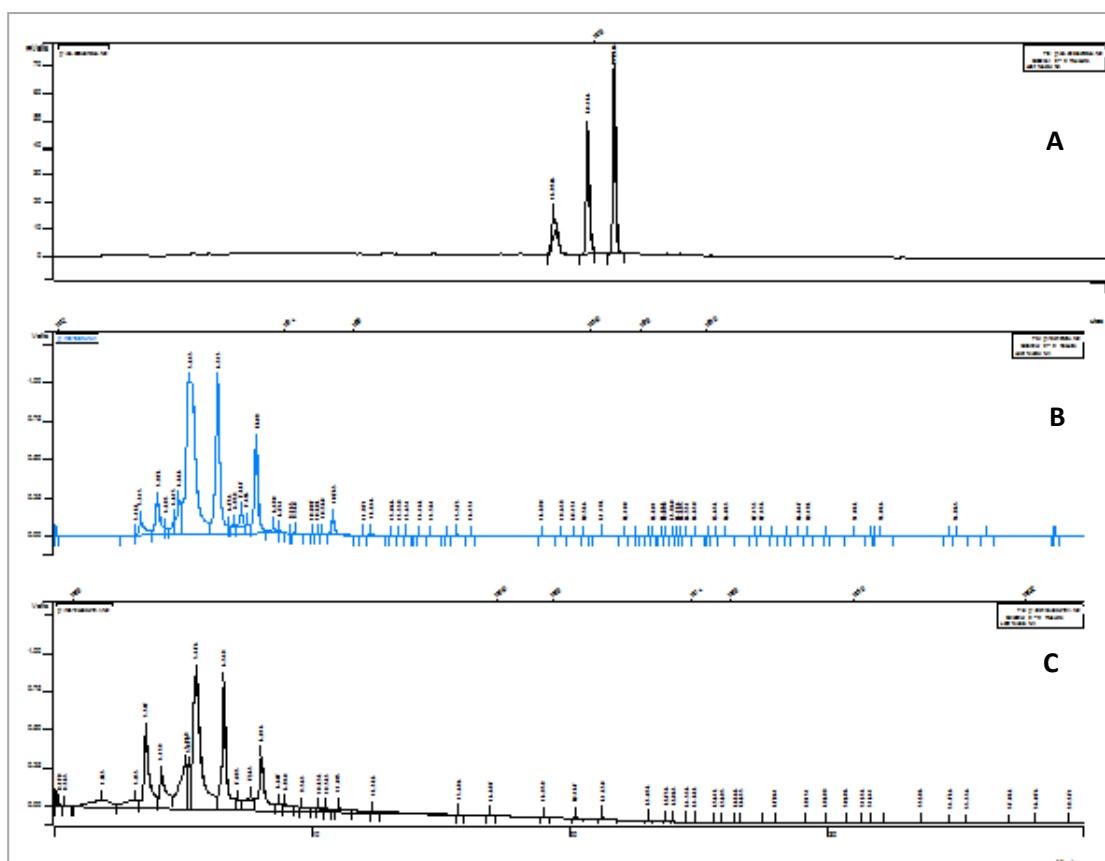


Figura 6 - Perfis cromatográficos (CLAE/UV). **A.** Mistura de ácidos anacárdicos (Sigma Aldrich). **B.** Extrato de flores *A. occidentale* (EBFL) no comprimento de onda de 278nm **C.** Extrato de flores no comprimento de onda 212nm.

7 CAPÍTULO IV

COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E ODONTOLÓGICAS À BASE DE FLORES OU EXTRATO DE PARTES AÉREAS DE ANACARDIUM OCCIDENTALE E USO DESSAS COMPOSIÇÕES.

Patente depositada em: 23 de julho de 2010

Nº de registro: 0000221003772336

CAMPO DA INVENÇÃO:

A presente invenção se refere a um processo de obtenção de produto farmacológico que apresente atividade antimicrobiana sobre as afecções bucais, a partir de planta da família Anacardiaceae, gênero *Anacardium*, mais particularmente à espécie *Anacardium occidentale*, a processo de obtenção desse produto, às aplicações deste produto, mais particularmente à obtenção de extrato etanólico e/ou hidroalcoólico das flores desta planta, à obtenção de liofilizados destes extratos, mais particularmente à obtenção de um produto farmacêutico baseado nestes liofilizados e uso terapêutico dos produtos farmacêuticos na prevenção e tratamento da doença cárie e tratamento de inflamações e infecções da cavidade oral em pacientes de todas as faixas etárias, em particular em pacientes especiais com habilidade motora comprometida.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Anacardium occidentale Linn., espécie nativa do Brasil, abundante, especialmente no litoral do nordeste, conhecida popularmente como cajueiro é muito usada pela população para tratamento de várias afecções. De acordo com os resultados aqui obtidos concluímos que as várias partes aéreas de *A. occidentale*, e em especial as flores, apresentam atividade antimicrobiana de largo espectro e atividade antioxidante. A atividade antimicrobiana é especialmente relevante sobre micro-organismos cariogênicos como *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus* e *Candida albicans* e sobre micro-organismos resistentes a maioria dos antibióticos disponíveis no mercado como *Staphylococcus aureus* MRSA e *Pseudomonas aeruginosa*, por exemplo.

No extrato das flores foi detectada a presença mais expressiva de alcaloides e flavonoides, embora estes mesmos metabólitos estejam também presentes nos extratos das folhas e da casca.

Como o extrato das flores foi o que apresentou maior atividade antimicrobiana ele foi fracionado resultando em 4 frações. Das frações somente a F1 foi ativa, assim a avaliação química utilizando métodos cromatográficos e espectrométricos só foi realizada com o extrato das flores e da sua fração F1.

Embora muitas vezes a atividade antimicrobiana de *Anacardium occidentale* esteja associada a presença dos ácidos anacárdicos e do ácido chiquímico, detectamos que nas flores estes não são os principais compostos ativos, pelo menos não isoladamente.

Elaboramos a partir das flores uma formulação terapêutica alvo da solicitação de patente. O produto quando testado *in vitro* apresentou ação comparável a clorexidina sobre *Streptococcus mutans*, bactéria responsável pelo início da lesão de cárie.

Diante dos resultados obtidos inferimos que os compostos presentes nas flores de *Anacardium occidentale* podem ser alvos importantes na prospecção de produtos com ação antimicrobiana de largo espectro no geral, e com ação anticárie, em particular.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Isolamento e identificação de moléculas que exercem a atividade antimicrobiana e antioxidante
- Ensaios microbiológicos com a substância identificada
- Controle da estabilidade e eficácia do bioproduto obtido
- Ensaios pré-clínicos e clínicos com o bioproduto

REFERÊNCIAS

- ABULUDE, F. O.; OGUNKOYA, M. O.; AKINJAGUNLA, Y. S. Phytochemical screening of leaves and stem of cashew tree (*Anacardium occidentale*). **Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v.9, p.815-819, 2010.
- ABULUDE, F. O.; OGUNKOYA, M. O.; ADEBOTE, V. T. Phytochemical and antibacterial investigations of crude extracts of leaves and stem barks of *Anacardium occidentale*. **Continental Journal of Biological Sciences**, v.2, p.12-16, 2009.
- AGEDAH, C. E., BAWO, D. D. S., NYANANYO, B. L. Identification of antimicrobial properties of cashew, *Anacardium occidentale* L. (Family Anacardiaceae). **Journal of Applied Sciences and Environmental management**, v.14, p.25-27, 2010.
- AGOSTINI-COSTA, T. S.; SANTOS, J. R.; GARRUTI, D. S.; FEITOSA, T. Caracterização, por cromatografia em camada delgada, dos compostos fenólicos presentes em pedúnculos de caju (*Anacardium occidentale* L.) **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.18, p.129-137, 2000.
- AGOSTINI-COSTA, T. S.; JALES, K. A.; GARRUTI, D. S.; PADILLHA, V. A.; LIMA, J. B.; AGUIAR, M. J.; PAIVA, J. R. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *Nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v.34, p.1075-1080, 2004.
- AISWARYA, G.; REZA, K. H.; RADHIKA, G.; FAROOK, S. M. Study for antibacterial activity of cashew apple (*Anacardium occidentale*) extracts. **Der Pharmacia Lettre**, v.3, p.193-200, 2011a.
- AISWARYA, G.; REZA, K. H.; RADHIKA, G.; RAHUL, G.; SIDHAYE, V. Study for anthelmintic activity of cashew Apple (*Anacardium occidentale*) extract. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 6, p. 44-47, 2011b.
- AKINHANMI, T. F.; ATASIE, V. N.; AKINTOKUN, P. O. Chemical composition and physicochemical properties of cashew nut (*Anacardium occidentale*) oil and cashew nut shell liquid. **Agricultural, Food, and Environmental Sciences**, v.2, p. 1-10, 2008.
- AKINPELU, D. A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**, v.72, p.286-287, 2001.

- AL-BAYATI, F. A.; SULAIMAN, K. *In vitro* antimicrobial activity of *Salvadora persica* L. extracts against some isolated oral pathogens in Iraq. **Turkish Journal of Biology**, v.32, p.57-62, 2008.
- ALETOR, O.; AGBEDE, J. O.; ADEYEYE, S. A.; ALETOR, V. A. Chemical and physio-chemical characterization of the flours and oil from whole and rejected cashew nuts cultivated in Southwest Nigeria. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.6, p.89-93, 2007.
- ALEXANDER-LINDO, R. L.; MORRISON, E. Y. St. A.; NAIR, M. G. Hypoglycaemic effect of stigmasterol-4-en-3-one and its corresponding alcohol from bark of *Anacardium occidentale* (Cashew). **Phytotherapy Research**, v.18, p.403-407, 2004.
- ALVES, P. M.; PEREIRA, J. V.; HIGINO, J. S.; PEREIRA, M. S. V.; QUEIROZ, L. M. G. QUEIROZ, L.M.G. Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. (alegrim) sobre microrganismos cariogênicos. **Arquivos em Odontologia**, v.44, p.53-58, 2008.
- ALVES, P. M.; QUEIROZ, L. M. G.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V. Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica *in vitro* de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, p.222-224, 2009.
- ALVIANO, W. S.; ALVIANO, D. S.; DINIZ, G. G.; ANTONIELLI, A. R.; ALVIANO, C.; FARIAS, L. M.; CARVALHO, M. A. R.; SOUZA, M. M. G.; BOLOGNESE, A. M. *In vitro* antioxidant potential of medicinal plant extracts and their activities against oral bacteria based on Brazilian folk medicine. **Archives of Oral Biology**, v.53, p.545-552, 2008.
- AMADI, E. S.; OYEKA, A.; ONYEAGBA, R. A.; OKOLI, I.; UGBOGU, O. C. Studies on the antimicrobial effects of *Spondias mombin* and *Baphia nittida* on dental caries organism. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v.10, p.393-397, 2007.
- ANDRADE, T. J. A. S.; ARAÚJO, B. Q.; CITÓ, A. M. G. L.; SILVA, J.; SAFFI, J.; RICHTER, M. F.; FERRAZ, A. B. F. Antioxidant, properties and chemical composition of technical cashew nut shell liquid (tCNSL). **Food chemistry**, v.126, p.1044-1048, 2011.
- ANEJA, K. R.; JOSHI, R.; SHARMA, C. *In vitro* antimicrobial activity of *Sapindus mukorossi* and *Emblia officinalis* dental caries pathogens. **Ethnobotanical Leaflets**, v.14, p.402-412, 2010.
- ANJOS, G. C.; FELIPE, M. B. M. C.; MEDEIROS, S. R. B.; SILVA, D. R.; MACIEL, M. A. M. Efeito antibacteriano do extrato metanólico de *Anacardium occidentale*. Fortaleza. 2009.

Disponível em: <http://sec.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T1625-1.pdf>. Acesso em: 24/11/2010.

ARAÚJO, C. R. F.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S.; PEREIRA, J. V.; MARTINS, A. B. Atividade antifúngica *in vitro* da casca do *Anacardium occidentale* Linn. sobre leveduras do gênero *Candida*. **Arquivos em Odontologia**, v.41, p.263-270, 2005.

ARAUJO, C. R. F.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; ALVES, P. M.; HIGINO, J. S.; MARTINS, A. B. Concentração mínima bactericida do extrato do cajueiro sobre bactérias do biofilme dental. **Pesquisa Brasileira de Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.9, p.187-191, 2009.

AREMU, M. O.; OLONISAKIN, D. A.; BAKO, D. A.; MADU, P. C. Composition studies and physicochemical characteristics of cashew nut (*Anacardium occidentale*) flour. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.5, p.328-333, 2006.

AREMU, M. O.; OGUNLADE, I.; OLONISAKIN, A. Fatty acid and amino acid composition of protein concentrate from cashew nut (*Anacardium occidentale*) grown in Nasarawa State, Nigeria. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.6, p.419-423, 2007.

ARENDORF, T. M.; WALKER, D. M. The prevalence and intra-oral distribution of *Candida albicans* in man. **Archives of Oral Biology**, v.25, p.1-10, 1980.

ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chemistry**, v.81, p.495-502, 2003.

BADARÓ, D. A.; FREITAS, M. P. C. Candidíase: manifestação bucal mais comum na cavidade oral de crianças HIV positivas. **Revista Científica CEMBIOS**, v.1, p.13-19, 1997.

BARBIERE, D. S. A. V.; VICENTE, V. A.; FRAIZ, F. C.; LAVORANTI, O. J.; SVIDZINSKI, T. I. E.; PINHEIRO, R. L. Analysis of the *in vitro* adherence of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p.624-631, 2007.

BARCELOS, G. R. M.; SHIMABUKURO F.; MACIEL, M. A. M.; CÓLUS, I. M. S. Genotoxicity and antigenotoxicity of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in V79 cells. **Toxicology in Vitro**, v.21, p.1468-1475, 2007a.

BARCELOS, G. R. M.; SHIMABUKURO F.; MORI, M. P.; MACIEL, M. A. M.; CÓLUS, I. M. S. Evaluation of mutagenicity and antimutagenicity of cashew stem bark methanolic extract *in vitro*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.114, p.268-273, 2007b.

BARRETT, B. Medical plants of Nicaragua's Atlantic Coast. **Economic Botany**, v.48, p.8-20, 1994.

- BICALHO, B.; PEREIRA, A. S.; AQUINO NETO, F. R.; PINTO, A. C.; REZENDE, C. M. Application of high temperature gas chromatography-massspectrometry to the investigation of glycosidically bound componentes related to cashew apple (*Anacardium occidentale* L. var. *Nanum*) volatiles. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.48, n.4, p.1167-1174, 2000.
- BICALHO, B.; REZENDE, C. M. Volatile compounds of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Zeitschrift für Naturforschung**, v.56, p.35-39, 2001.
- BORBA, A. M.; MACEDO, M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v.20, p.771-782, 2006.
- BORGES, K. B.; BAUTISTA, B. H.; GUILERA, S. Diabetes: utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.2, p.12-20, 2008.
- BOWDEN, G. H. Effects of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. **Journal of Dental Research**, v.69, p.653-659, 1990.
- BOWDEN, G.; EDWARDSON, S. Ecologia oral e a cárie dentária. In: THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. 2.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1995. p.45-69.
- BOWDEN, G. H. Mutans streptococci caries and chlorhexidine. **Journal American Dental Association**, v.62, p.700-707, 1996.
- BRAGA, F. G.; BOUZADA, M. L. M.; FABRI, R. L.; MATOS, M. O.; MOREIRA, F.O.; SCIO, E.; COIMBRA, E. S. Antileishmanial and antifungal activity of plants used in traditional medicine in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p.396-402, 2007.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Condições de saúde bucal na população brasileira. Projeto SB Brasil 2003: resultados principais. Brasília: Ministério da Saúde, 2007.
- BRIGHENTI, F. L.; LUPPENS, S. B. I.; DELBEM, A. C. B.; DENG, D. M.; HOOGENKAMP, M. A.; GAETTI-JARDIM Jr., E.; DEKKER, H. L.; CRIELAARD, W.; TEN CATE, J. M. Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on *Streptococcus mutans* viability, protein expression and acid production. **Caries Research**, v.42, p.148-154, 2008.
- BRITO, E. S.; ARAÚJO, M. C. P.; LIN, L. Z.; HARNLY, J. Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) by LC-DAD-ESI/MS. **Food Chemistry**, v.105, p.1112-1118, 2007.
- BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante

dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.902-908, 2007.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E. ; MANCINI-FILHO, J. Propriedades antioxidantes em subproduto do pedúnculo de caju (*Anacardium occidentale* L.): efeito sobre a lipoperoxidação e o perfil de ácidos graxos poliinsaturados em ratos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, p.773-781, 2008.

CABRAL, T. M. Avaliação dos constituintes e do potencial mutagênico do material particulado oriundo do beneficiamento artesanal da castanha de caju. 2010. 108f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

CARTAXO, S. L.; SOUZA, M. M. A., ALBUQUERQUE, U. P. Medicinal plants with bioprospecting potencial used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v.131, p.326-342, 2010.

CARVALHO, L. Clorexidina em odontologia. **Revista Gaúcha de Odontologia**, v.39, p.423-427, 1991.

CASADEI, E.; BRUHEIM, S.; LATIS, T. Princípios activos da casca de castanha de cajú com acção moluscocida: possível emprego no programa de luta contra a esquistossomose. **Revista Médica de Moçambique**, v.2, p.35-39, 1984.

CCAHUANA-VASQUEZ, R. A.; SANTOS, S. S. F.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. C. Antimicrobial activity of *Uncaria tomentosa* against oral human pathogens. **Brazilian Oral Research**, v. 21, n.1, p.46-50, 2007.

CHA, J.D. Chemical composition and antibacterial activity against oral bacteria by the essential oil of *Artemisia iwayomogi*. **Journal of Bacteriology and Virology**, v.37, p.129-136, 2007.

CHAVES, M. H.; CITÓ, A. M. G. L.; LOPES, J. A. D.; COSTA, D. A.; OLIVEIRA, C. A. A.; COSTA, A. F.; BRITO-JÚNIOR, F. E. M. Total phenolics, antioxidant activity and chemical constituents from extracts of *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.20, p.106-112, 2010.

CHHABRA, S. C.; MAHUNNAH, R. L. MSHIU, E. N. Plants used in traditional medicine in eastern Tanzania. I. Pteridophytes and angiosperms (Acanthaceae to Canellaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.21, p.253-277, 1987.

- CHUNG, J. Y.; CHOO, J. H.; LEE, M. H.; HWANG, J. K. Anticariogenic activity of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (nutmeg) against *Streptococcus mutans*. **Phytomedicine**, v.13, p.261-266, 2006.
- COE, F.; ANDERSON, G. J. Ethnobotany of the Garifuna of Eastern Nicaragua. **Economic Botany**, v. 50, p.71-107, 1996.
- CORRÊA, M. P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. p.400-402.
- CORREIA, S. J.; DAVID, J. J.; DAVID, J. M. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v.29, p.1287-1300, 2006.
- COSTA, C. C.; COSTA FILHO, L. C.; SÓRIA, M. L.; MAINARD, A. P. R. Análise comparativa da remoção de placa bacteriana pelas escovações manual e elétrica, em crianças com dentição mista. **Jornal Brasileiro de Odontopediatria & Odontologia do bebê**, v.4, p.473-478, 2001.
- COSTERTON, J. W.; STEWART, P. S.; GREENBERG, E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. **Science**, v. 284, p.1318-1322, 1999.
- CRUZ, G. **Dicionário de Plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ed. Civilização Brasileira, 1985. p.139.
- DAHAKA, A. P.; JOSHI, V. D.; JOSHI, A. B. Antimicrobial screening of different extract of *Anacardium occidentale* Linn. Leaves. **International Journal of Chem Tech Research**, v.1, p.856-858, 2009.
- DARE, S. S.; HAMMAN, W. O.; MUSA, S.; GOJI, A. D. T.; OYEWALE, A. A.; ABBA, S.; EZEKIEL, I. Effects of aqueous extracts of *Anacardium occidentale* (Cashew) leaves on pregnancy outcome of wistar rats. **International Journal of animal and veterinary Advances**, v.3, p.77-82, 2011.
- EDOGA, M. O.; FADIPE, L.; EDOGA, R. N. Extraction of polyphenols from cashew nut shell. **Leonardo Eletronic Journal of Practices and Technologies**, v.9, p.107-112, 2006.
- ELEY, B. M. Antibacterial agents in the control of supragingival plaque - a review. **British Dental Journal**, v.186, p.286-296, 1999.
- EMILSON, C. G. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. **Journal of Dental Research**, v.73, p.682-691, 1994.
- EMILSON, C. G. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. **Scandinavian Journal of Dental Research**, v.85, p.255-265, 1977.

- FANI, M. M.; KOHANTEB, J.; DAYAGHI, M. Inhibitory activity of garlic (*Allium sativum*) extract on multidrug-resistant *Streptococcus mutans*. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, v.25, p.164-168, 2007.
- FARIAS, D. F.; CAVALHEIRO, M. G.; VIANA, S. M.; DE LIMA, G. P. G.; DA ROCHA-BEZERRA, L. C. B.; RICARDO, N. M. P. S.; CARVALHO, A. F.U. Insecticidal action of sodium anacardate from Brazilian cashew nut shell liquid against *Aedes aegypti*. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v.25, p.386-389, 2009.
- FERNANDES, F. R. C.; GUEDES-PINTO, A. C. Cárie dentária. In: GUEDES-PINTO, A. C. **Odontopediatria**. 5.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1995. p.353-381.
- FERNANDES, S. F.; FERNANDES, J. K. B.; MARQUES, S. G.; SILVA, R. A. Effect of chlorhexidine gel containing saccharin or aspartame in deaf children highly infected with mutans streptococci. **Brazilian Journal of Oral Science**, v. 10, p.7-11, 2011.
- FERRONATTO, R.; MARCHESAN E.; BEDNARSKI, F.; RIBAS, T. T. Z.; ONOFRE, S. B. Efeitos do óleo essencial produzido por *Baccharis dracunculifolia* D. C. (Asteraceae) sobre bactérias cariogênicas. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, v.11, p.15-18, 2007.
- FIGUEIREDO, R. W.; LAJOLO, F. M.; ALVES, R. E.; FILGUEIRAS, H. A. C. Physical-chemical changes in early dwarf cashew pseudofruits during development and maturation. **Food Chemistry**, v.77, p.343-347, 2002.
- FIGUEIREDO, L. C.; CORTELLI, S. C.; ARAUJO, M. W. B.; COELHO, M. H. M.; BARRETO, I. M. Q.; FERES, M. Ação antimicrobiana de extratos de vegetais sobre a microbiota da placa dentária e saliva: estudo *in vitro*. **Revista de Odontologia da UNICID**, v.16, p.15-20 2004.
- FISCHER, R. G. Controle mecânico e químico do biofilme dental. In: TUNES, U. R.; RAPP, G. E. **Atualização em Periodontia e Implantodologia**. São Paulo: Artes Médicas, 1999. p.1-15.
- FLORÊNCIO, A. P. S.; MELO, J. H. L.; MOTA, C. R. F. C.; MELO-JÚNIOR, M. R.; ARAÚJO, R. V. S. Estudo da atividade anti-tumoral do polissacarídeo (PJU) extraído de *Anacardium occidentale* frente a um modelo experimental do sarcoma 180. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v.4, p.61-65, 2007.
- FLORES, J. S.; RICALDER, R. V. The secretion and exudates of plants used in Mayan tradicional medicine. **Journal Herbs Spices and Medicinal Plants**, v.4, p.53-59,1996.
- FRANÇA, F.; CUBA, A. C.; MOREIRA, E. A.; MIGUEL, O.; ALMEIDA, M.; VIRGENS, M. L.; MARSDEN, P. D. Avaliação do efeito do extrato de casca de cajueiro branco (*Anacardium*

occidentale L.) sobre a infecção por *Leishmania* (*Viannia*) *brasiliensis*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 26, p.151-155, 1993.

FRANÇA, F.; LAGO, E. L.; MARSDEN, P. D. Plants used in the treatment of leishmanial ulcers due to *Leishmania* (*Viannia*) *brasiliensis* in an endemic area of Bahia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.29, p.229–232, 1996.

FUJIWARA, T. Etiology and clinical symptoms of dental caries. **Foods & Food Ingredients Journal of Japan**, v. 210, p.1, 2005.

GAITÁN, S.; RICO, Y.; MEDINA, R.; SEGURA, R. Efecto de la temperatura de industrialización de la nuez de marañón en la actividad antibacteriana en *S. mutans* del líquido de la cáscara (LCNM). **Revista Colombiana de Química**, v.32, p.103-112, 2003.

GARRUTI, D. S., FRANCO, M. R. B., SILVA, M. A. A. P.; JANZANTTI, N. S.; ALVES, G. L. Assessment of aroma impact compounds in a cashew apple-based alcoholic beverage by GC-MS and GC-olfactometry. **LWT-Food Science and Technology**, v. p.39, 372-377, 2006.

GAZZOLA, J.; GAZZOLA, R.; COELHO, C. H. M.; WANDER, A. L.; CABRAL, J. E. O. A amêndoa da castanha-de-caju: composição e importância dos ácidos graxos – produção e comércio mundiais. **XLIV Congresso da Sociedade Brasileira de Economia e Sociologia Rural**, p.1-14, 2006.

GEBRAN, M. P.; GEBERT, A. P. O. Controle químico e mecânico de placa bacteriana. **Tuiuti Ciência e Cultura**, v.26, p.45-58, 2002.

GILL, L. S.; AKINWUMI, C. Nigerian folk medicine: practices and beliefs of the Ondo people. **Journal of Ethnopharmacology**, v.18, p.257-266, 1986.

GIORGI, S. M.; MICHELI, G. Agentes químicos no controle da placa bacteriana. Resumos das conclusões do Congresso da American Academy of Periodontology – (A.A.P.) – 1989. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v.46, p.857-860, 1992.

GIRÓN, L. M.; FREIRE, V.; ALONZO, A.; CÁCERES, A. Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. **Journal of Ethnopharmacology**, v.48, p.8-20, 1994.

GÓMEZ-CARAVACA, A. M.; VERARDO, V.; CABONI, M. F. Chromatographic techniques for the determination of alkyl-phenols, tocopherols and other minor compounds in raw and roasted cold pressed cashew. **Journal of Chromatography A**, v.1217, p.7411-7417, 2010.

GONÇALVES, J. L. S.; LOPES, R. C.; OLIVEIRA, D. B.; COSTA, S. S.; MIRANDA, M. M. F. S.; ROMANOS, M. T. V.; SANTOS, N. S. O.; WIGG, M. D. *In vitro* anti-rotavirus activity of some

medicinal plants used in Brazil against diarrhea. **Journal of Ethnopharmacology**, v.99, p.403-407, 2005a.

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

GONTIJO, F. A.; BALDASSI, L.; BACH, E. E. Efeito do extrato de *Anacardium occidentale* sobre o desenvolvimento de *Listeria monocytogenes*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71 (Supl), p.1-749, 2004. (Resumo Expandido).

GONZÁLEZ, A. M. N.; GONZÁLEZ, M. B. R.; PINTO, N. L. S. Estudio fitoquímico y actividad antibacterial de *Psidium guineense* Sw (choba) frente a *Streptococcus mutans*, agente causal de caries dentales. **Revista Cubana de Plantas Medicinalis**, v.10, p.1-11, 2005.

GRANATH, L.; SCHRÖDER, U.; POULSEN, S.; HOLM, A. K. Cárie dentária: análise dos fatores de doença. In: KOCH, G.; MODEÉR, T.; POULSEN, S.; RASMUSSEN, P. **Odontopediatria: uma abordagem clínica**. São Paulo: Ed. Santos, 1992. p.143-153.

GRÉGIO, A. M. T.; FORTES, E. S. M.; ROSA, E. A. R.; SIMEONI, R. B.; ROSA, R. T. Ação antimicrobiana do *Zingiber officinale* frente à microbiota bucal. **Estudos de Biologia**, v. 28, p.61-66, 2006.

GUERRERO, R.; RINCÓN F.; CLAMENS, C.; PINTO, G. L. Parámetros analíticos de La goma de *Anacardium occidentale* L. y su potencial industrial. **Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas**, v.37, p.44-55, 2003.

HAMILTON-MILLER, J. M. T. Anti-cariogenic properties of tea (*Camellia sinensis*). **Journal of Medical Microbiology**, v.50, p.299-302, 2001.

HAMMER, K. A.; JOHNSON, M.; MICHALAK, E. M.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Susceptibility of oral bacteria to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil *in vitro*. **Oral Microbiology and Immunology**, v.18, p.389-392, 2003.

HARDIE, J. M. Oral microbiology: current concepts in the microbiology of dental caries and periodontal disease. **British Dental Journal**, v.172, p.271-278, 1992.

HENRIQUES, M.; AZEREDO, J.; OLIVEIRA, R. Adhesion of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to acrylic and hydroxyapatite. **Biointerfaces**, v.33, p. 235-241, 2004.

HIMEJIMA, M.; KUBO, I. Antibacterial agents from the cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) nut shell oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, p.418-421, 1991.

- HIMRATUL-AZNITA, W. H; ZAINAL-ABIDIN, Z. Inhibitory effect of chlorhexidine and clove extract oral rinses in reducing dental plaque microbes. **International Journal of Tropical Medicine**, v.3, p.40-42, 2008.
- HOUTHE, J. van. Bacterial specificity in the etiology of dental caries. **International Dental Journal**, v.30, p.305-326, 1980.
- JAISWAL, Y. S.; TATKE, P. A.; GABHE, S. Y.; VAIDYA, A. Antioxidant activity of various extracts of leaves of *Anacardium occidentale* (Cashew). **Research Journal of Pharmaceutical Biological Chemical Science**, v.4, p.112-119, 2010.
- JÄRVENSIVU, A.; HIETANEN, J.; RAUTEMMA, R.; SORSA, T.; RICHARDSON, M. *Candida* yeasts in chronic periodontitis tissues and subgingival microbial biofilms *in vivo*. **Oral Diseases**, v.10, p.106-112, 2004.
- JONES, C. G. Chlorhexidine: is it still the gold standard? **Periodontol** **2000**, v.15, p.55-62, 1997.
- JORGE, A. O. C. **Microbiologia bucal**. 2.ed. São Paulo: Santos, 1998. 121p.
- JORGE, L. I. F.; SILVA, G. A.; FERRO, V. O. Diagnose laboratorial dos frutos e folhas de *Anacardium occidentale* L. (Caju). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.5, p.55-69, 1996.
- KAMATH, V.; RAJINI, P. S. The efficacy of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. **Food Chemistry**, v. 103, p.428-433, 2007.
- KAMTCHOUNG, P.; SOKENG, S. D.; MOUNDIPA, P. F.; WATCHO, P.; JATSA, H. B.; LONTSI, D. Protective role of *Anacardium occidentale* extract against streptozotocin-induced diabetes in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.62, p.95-99, 1998.
- KANNAN, V. R.; SUMATHI, C. S.; BALASUBRAMANIAN, V.; RAMESH, N. Elementary chemical profiling and antifungal properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) nuts. **Botany Research International**, v.2, p.253-257, 2009.
- KASEMURA, K.; NOMURA, M.; TADA, T.; FUJIHARA, Y.; SHIMOMURA, K. Antimicrobial and tyrosinase inhibitory activities of 6-[(8Z)-8-Pentadecenyl] salicylic acid derivatives. **Journal of Oleo Science**, v.51, p.637-642, 2002.
- KATSURA, H.; TSUKIYAMA, R. I.; SUZUKI, A.; KOBAYASHI, M. *In vitro* antimicrobial activities of Bakuchiol against oral microorganisms. Antimicrobial **Agents and Chemotherapy**, v.45, p. 3009-3013, 2001.
- KEYS, P. A. The infection and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. **Archives Oral Biology**, v.1, p.304-320, 1960.

- KHULLER, N. The biofilm concept and its role in prevention of periodontal disease. **Revista de Clínica e Pesquisa Odontológica**, v.5, p.53-57, 2009.
- KOLAPO, A. L.; OKUNADE, M. B.; ADEJUMOBI, J. A.; OGUNDIYA, M. O. Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Prosopis africana* against some selected oral pathogens. **World Journal of Agricultural Sciences**, v.5, p.90-93, 2009.
- KONAN, N. A.; BACCHI, E. M. Antiulcerogenic effect and acute toxicity of a hydroethanolic extract from the cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaves. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, p.237-242, 2007.
- KOTESWARA, R. P., BOBBARALA, V., ARYAMITHRA, D., DEVI, O. S., RAGHAVA RAO, T. *In vitro* antibacterial activities of plant essential oils against oral bacteria. **Indian Journal of Multidisciplinary Research**, v.4, p.507-516, 2008.
- KUBO, I.; KOMATSU, S.; OCHI, M. Molluscicides from the cashew *Anacardium occidentale* and their large-scale isolation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.34, p.970-973, 1986.
- KUBO, I.; OCHI, M.; VIEIRA, P. C.; KOMATSU, S. Antitumor agents from the cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.1012-1015, 1993a.
- KUBO, I.; MUROI, H.; KUBO A.; HIMEJIMA, M. Structure-antibacterial activity relationships of anacardic acids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.1016-1019, 1993b.
- KUBO, I.; MUROI, H.; KUBO A. Naturally occurring antiacne agents. **Journal of Natural Products**, v.57, p.9-17, 1994.
- KUBO, J.; LEE, J. R.; KUBO, I. Anti-*Helicobacter pylori* agents from the cashew apple. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.533-537, 1999.
- KUBO, I.; NIHEI, K.; TSUJIMOTO, K. Antibacterial action of anacardic against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.7624-7628, 2003.
- KUBO, I.; MASUOKA, N.; HA, T. J.; TSUJIMOTO, K. Antioxidant activity of anacardic acids. **Food Chemistry**, v.99, p.555-562, 2006.
- KUDI, A. C.; MYINT, S. H. Antiviral activity of some Nigerian medicinal plant extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v.68, p.289-294, 1999.
- KUDI, A. C.; UMOH, J. U.; EDUVIE, L. O.; GEFU, J. Screening of some Nigerian medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v.67, p.225-228, 1999.

- KULKARNI, V. V. ; DAMLE, S. G. Comparative evaluation of efficacy of sodium fluoride, chlorhexidine and triclosan mouth rinses in reducing the *mutans streptococci* count in saliva : an *in vivo* study. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, v.21, p.98 – 104, 2003.
- KUMAR, P. P.; PARAMASHIVAPPA, R.; VITHAYATHIL, P. J.; RAO, P. V. S.; RAO, A. S. Process for isolation of cardanol from technical cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.4705-4708, 2002.
- LAURENS, A.; MBOUP, S.; GIONO-BARBER, P.; SYLLA, O.; DAVID-PRINCE, M. Étude de l'action antibactérienne d'extraits d'*Anacardium occidentale* L. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, v. 40, p.143-146, 1982.
- LAURENS, A.; BELOT, J.; DELORME, C. Activité molluscicide de l'*Anacardium occidentale* L. (Anacardiacees). **Annales Pharmaceutiques Françaises**, v.45, p.471-473, 1987.
- LAURENS, A.; FOURNEAU, C.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A.; BORLES, C.; LOISEAU, P. M. Antivectorial activities of cashew nut shell extracts from *Anacardium occidentale* L. **Phytotherapy Research**, v.11, p.145-146, 1997.
- LEGGOTT, P. J. Oral manifestations of HIV infection in children. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**, v.73, p.187-192, 1992.
- LEITES, A. C. B. R; PINTO, M. B.; SOUSA, E. R. S. Aspectos microbiológicos da cárie dental microbiological. **Salusvita**, v. 25, p.135-148, 2006.
- LEWIS, R. A. Herbal medicine in West Africa. **Trends Pharmacological Sciences**, v.1, p.7-8, 1980.
- LIMA, C. A. A.; PASTORE, G. M.; LIMA, E. D. P. A. Estudo da atividade antimicrobiana dos ácidos anacárdicos do óleo da casca da castanha de caju (CNSL) dos clones de cajueiro-anão-precoce CCP-76 e CCP-09 em cinco estágios de maturação sobre microrganismos da cavidade bucal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, p.358-362, 2000.
- LIMA, J. R.; SILVA, M. A. A. P.; GONÇALVES, L. A. G. Caracterização sensorial de amêndoas de castanha-de-caju fritas e salgadas. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.19, 123-126, 1999.
- LOESCHE , W. J. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 50, p. 353-380, 1986.
- LOMONACO, D.; SANTIAGO, G. M. P.; FERREIRA, Y. S.; ARRIAGA, A. M. C.; MAZZETTO, S. E.; MELE, G.; VASAPOLLO, G. Study of tecnical CNSL and its main components as new green larvicides. **Green Chemistry**, v.11, p.31-33, 2009.

- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. 2.ed. Nova Odessa, São Paulo. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002. p. 49-50.
- LOWOR, S. T.; AGYENTE-BADU, C. K. Mineral and proximate composition of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice from Northern Savannah, Forest and Coastal Savannah regions in Ghana. **American Journal of Food Technology**, v.4, p.154-161, 2009.
- LUCENA, V. M. X. Diversidade genética entre genótipos de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e qualidade do fruto e pseudofruto. 2006. 91f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2006.
- LUZ, F.J.F. Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil. **Horticultura Brasileira**, v.19, p.88-96, 2001.
- MACEDO, N. L.; LACAZ-NETO, R. L. **Manual de higienização bucal: motivação dos pacientes**. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora de Publicações Médicas, 1983. p.13-22.
- MACEDO-COSTA, M. R.; DINIZ, D. N.; CARVALHO, C. M.; PEREIRA, M. S. V.; PEREIRA, J. V. HIGINO, J. S. Eficácia de *Myciaria cauliflora* (Mart) O. Berg. (jabuticabeira) sobre bactérias orais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, p.565-571, 2009.
- MACIEL, M. I.; HANSEN, T. J. ; ALDINGER, S. B.; LABOWS, J. N. Flavor chemistry of cashew apple juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.34, p.923-927, 1986.
- MACIEL, J.S.; SILVA, D.A.; PAULA, H.C.B.; PAULA, R.C.M. Chitosan/carboxymethyl cashew gum polyelectrolyte complex: synthesis and thermal stability. **European Polymer Journal**, v.41, p.2726-2733, 2005.
- MACKEEN, M. M.; ALI, A. M.; EL-SHARKAWY, S. H.; MANAP, M. Y.; SALLEH, K. M.; LAJIS, N. H.; KAWAZU, K. Antimicrobial and cytotoxic properties of some Malaysian traditional vegetables (Ulam). **International Journal of Pharmacognosy**, v.35, p.174-178, 1997.
- MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; ZOGHBI, M. G. B. Volatile constituents of the leaves, fruits and flowers of cashew (*Anacardium occidentale*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v.13, p.227-232, 2000.
- MALTZ, M. T. Prevenção das doenças cárie e periodontal. In: TOLEDO, O. A. **Odontopediatria: fundamentos para a prática clínica**, 2.ed. São Paulo: Premier, 1996. p.135-173.
- MARQUES, M. R.; ALBUQUERQUE, L. M. B.; XAVIER-FILHO, J. Antimicrobial and insecticidal activities of cashew tree gum exudate. **Annals Applied Biology**, v.121, p.371-377, 1992.

- MARSH, P. D.; KEEVIL, C. V.; McDERMID, A. S.; WILLIAMSON, M. I.; ELLWOOD, D. C.; Inhibition by the antimicrobial agent chlorhexidine of acid production and sugar transport in oral streptococcal bacteria. **Archives of Oral Biology**, v.28, p.233-240, 1983.
- MARSH, P. D. Dental plaque as a biofilm and a microbial community implications for health and disease. **Bio Med Central Oral Health**, v.6 (Suppl 1), p.2-7, 2006.
- MARTINS, A. L. C. F.; TESSLER, A.P. C. V.; CORRÊA, M. S. N. P. Controle mecânico da placa bacteriana. In: CORRÊA, M. S. **Odontopediatria na primeira infância**. São Paulo: Ed. Santos, 1998. p.271-278.
- MAZZETTO, S. E.; LOMONACO, D.; MELE, G. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. **Química Nova**, v.32, p.732-741, 2009.
- MELO, M. L. P.; MAIA, G. A.; SILVA, G. S. F. FIGUEIREDO, R. W. Caracterização físico-química da amêndoa da castanha de caju (*Anacardium occidentale* L.) crua e tostada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, p.184-187, 1998.
- MELO, A. F. M.; SANTOS, E. J. V.; SOUZA, L. F. C.; CARVALHO, A. A.T.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S. *In vitro* antimicrobial activity of an extract of *Anacardium occidentale* L. against Streptococcus species. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.16, p.202-205, 2006.
- MELO-CAVALCANTE, A. A.; RUBENSAM, G.; PICADA, J. N.; SILVA, E. G.; MOREIRA, F. J. C.; HENRIQUES, J. A. P. Mutagenicity, antioxidant potential and antimutagenic activity against hydrogen peroxide of cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice and cajuína. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v.41, p.360-369, 2003.
- MELO-CAVALCANTE, A. A.; RÜBENSAM, G.; ERDTMANN, B.; BRENDL, M.; HENRIQUES, J. A. P. Cashew (*Anacardium occidentale*) apple juice lowers mutagenicity of aflatoxin B1 in *S. typhimurium* TA102. **Genetics and Molecular Biology**, v.28, p.328-333, 2005.
- MELO-CAVALCANTE, A. A.; PICADA, J. N.; RUBENSAM, G.; HENRIQUES, A. P. Antimutagenic activity of cashew apple (*Anacardium occidentale* Sapindales, Anacardiaceae) fresh juice and processed juice (cajuína) against methyl methanesulfonate, 4-nitroquinoline N-oxide and benzo[a]pyrene. **Genetics and Molecular Biology**, v.31, p.759-766, 2008.
- MENDONÇA, F. A. C.; SILVA, K. F. S.; SANTOS, K. K.; RIBEIRO JÚNIOR, K. A. L.; SANT'ANA, A. E. G. Activities of some Brazilian plants against larvae of the mosquito *Aedes aegypti*. **Fitoterapia**, v.76, p.629-636, 2005.

- MENESTRINA, J. M.; IACOMINI, M.; JONES, C.; GORIN, P. A. J. Similariy of monosaccharide, oligosaccharide, and polysaccharide structures in gum exudate of *Anacardium occidentale*. **Phytochemistry**, v.47, p.715-721, 1998.
- MICHODJEHOUN-MESTRES, L.; SOUQUET, J. M.; FULCRAND, H.; BOUCHUT, C; REYNES, M; BRILLOUET, JM. Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.). **Food Chemistry**, v.112, p.851-857, 2009.
- MOIMAZ, S. A. S.; GARBIN, C. A. S.; AGUIAR, A. A. A.; SILVA, M. B. Capacidade tampão da saliva frente a diversos estímulos gustativos. **Revista da Faculdade de Odontologia de Lins**, v.4, p.19-23, 2002.
- MORAIS, T. C.; PINTO, N. B.; CARVALHO, K. M. M. B.; RIOS, J. B.; RICARDO, N. M. P. S.; TREVISAN, M. T. S.; RAO, V. S.; SANTOS, F. A. Protective effect of anacardic acids from cashew (*Anacardium occidentale*) on ethanol-induced gastric damage in mice. **Chemico-Biological Interactions**, v.183, p.264-269, 2010.
- MORAN, J.; ADDY, M.; ROBERTS, S. A comparison of natural product, triclosan and chlorexidine mouthrinses on 4-day plaque regrowth. **Journal of Clinical Periodontology**, v.19, p.578-582, 1992.
- MORGAN, T. D.; BEEZER, A. E.; MITCHELL J. C.; BUNCH, A. W. A microcalorimetric comparison of the anti-*Streptococcus mutans* efficacy of plant extracts and antimicrobial agents in oral hygiene formulations. **Journal of Applied Microbiology**, v.90, p. 53-58 2001.
- MOREIRA, R.C.R.; RABELO, J. M. M.; GAMA, M. L. A.; COSTA, J. M. L. Nível de Conhecimentos sobre leishmaniose tegumentar americana (LTL) e uso de terapias alternativas por populações de uma área endêmica da Amazônia do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.18, p.187-195, 2002.
- MOTA, M. L. R.; THOMAS, G.; BARBOSA FILHO, J. M. Anti-inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v.13, p.289-300, 1985.
- MUKHOPADHYAY, A. K.; HATI, A. K.; TAMIZHARASU, W.; BABU, P. S. Larvicidal properties of cashew nut shell liquid (*Anacardium occidentale* L) on immature stages of two mosquito species. **Journal of Vector Borne Diseases**, v.47, p.257-260, 2010.
- MUROI, H.; KUBO, A.; KUBO, I. Antimicrobial activity of cashew apple flavor compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.1106-1109, 1993.

- MUROI, H.; KUBO, I. Bactericidal activity of anacardic acids against *Streptococcus mutans* and their potentiation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, p.1780-1783, 1993.
- MUSA, D. A.; YUSULF, G.O.; OJOGBANE, E. B.; NWODO, F. O. C. Screening of eight used in folkloric medicine for the treatment of typhoid fever. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 2, p.7-15, 2010.
- MUSTAPHA, Y.; HAFSAT, S. Antibacterial activities of *Anacardium occidentale* (L.) leaf extract against some selected bacterial isolates. **International of Journal Pure and Applied Sciences**, v.1, p.40-43, 2007.
- NEGRINI, T. C.; DUQUE, C.; HÖFLING, J. F.; GONÇALVES, R. B. Fundamental mechanisms of immune response to oral bacteria and the main perspectives of a vaccine against dental caries: a brief review. **Revista Odonto Ciências**, v.24, p.198-204, 2009.
- NIKAWA, H.; HAMADA, T.; YAMASHIRO, H.; MURATA H.; SUBIWAHJUDI, A. The effect of saliva or serum on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* colonization of hydroxyapatite beads. **Journal of Dentistry**, v.26, p.31-37, 1998.
- NIKAWA, H.; YAMASHIRO, H.; MAKIHIRA, S.; NISHIMURA, M.; EGUSA, H.; FURUKAWA, M.; SETIANTO, D.; HAMADA, T. *In vitro* cariogenic potential of *Candida albicans*. **Mycosis**, v.46, p.471-478, 2003.
- OFORIK-WAKYE, K.; ASANTEWAA, Y.; KIPO, S. L. Physicochemical and binding properties of cashew tree gum in metronidazole tablet formulations. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.2, p.105-109, 2010.
- OGUNDIYA, M. O.; KOLAPO, A. L.; OKUNADE M. B.; ADEJUMOBI, J. A. Evaluation of phytochemical composition and antimicrobial activity of *Terminalia glaucescens* against some oral pathogens. **Advances in Natural and Applied Sciences**, v.2, p.89-93., 2008.
- OGUNDIYA, M. O.; KOLAPO, A. L.; OKUNADE M. B.; ADEJUMOBI, J. A. Assessment of phytochemical composition and antimicrobial activity of *Terminalia glaucescens* against some oral pathogens. **Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry**, v.8, p.446-471, 2009.
- OJEWOLE, J. A. O. Laboratory evaluation of the hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* Linn. (Anacardiaceae) stem-bark extracts in rats. **Methods of Finding & in Experimental & Clinical Pharmacology**, v.25, p.199-204, 2003.

- OKOJIE, V. U.; OSUIDE, M. O.; AIGBOKHIAN, A. A study of some physico-chemical characteristic of cashew tree exudate *Anacardium occidentale*. **Advances in Natural and Applied Science Research**, v.8, p.259-263, 2010.
- OKONKWO, T. J. N.; OKORIE, O.; OKONTA, J. M.; OKONKWO, C. J. Sub-chronic hepatotoxicity of *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) inner stem bark extract in rats. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.72, p.353-357, 2010.
- OLAJIDE, O. A.; ADEROGBA, M. A.; ADEDAPO, A. D. A.; MAKINDE, J. M. Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on *in vivo* inflammatory models. **Journal of Ethnopharmacology**, v.95, p.139-142, 2004.
- OLATUNJI, L. A.; OKWUSIDI, J. I.; SOLADOYE, A. O. Antidiabetic effect of *Anacardium occidentale* stem-bark in fructose-diabetic rats. **Pharmaceutical Biology**, v.43, p.589-593, 2005.
- OLIVEIRA, W. J. Controle químico da placa bacteriana: um coadjuvante na prevenção da doença cárie dental. **Revista do Conselho Regional de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v.1, p. 27-32, 1996.
- OLIVEIRA, M. S. C.; MORAIS, S. M.; MAGALHÃES, D. V.; BATISTA, W. P.; VIEIRA, I. G. P.; CRAVEIRO, A. A.; MENEZES, J. E. S. A.; CARVALHO, A. F. U.; LIMA, G. P. G. Antioxidant, larvicidal and antiacetylcholinesterase activities of cashew nut shell liquid constituents. **Acta Tropica**, v.117, p.165-170, 2011.
- OMOJASOLA, P. F.; AWE, S. The antibacterial activity of the leaf extracts of *Anacardium occidentale* and *Gossypium hirsutum* against some selected microorganisms. **Bioscience Research Communications**, v.16, p. 25-28, 2004.
- OPARAEKE, A. M.; BUNMI, O. J. Insecticidal potential of cashew (*Anacardium occidentale* L.) for control of the beetle, *Collosobruchus subinnotatus* (Pic.) (Bruchidae) on bambarra-groundnut (*Voandzeia subterranean* L.) verde. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.39, p.247-251, 2006.
- OSAWA, R.; YASUDA, H.; MARUYAMA, T.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; ITOKAWA, H. Isoflavanones from the Heartwood of *Swartzia polyphylla* and their antibacterial activity against cariogenic bacteria. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v.40, p.2970-2972, 1992.
- O'SULLIVAN, J. M.; JENKINSON, H. F.; CANNON, R. D. Adhesion of *Candida albicans* to oral streptococci is promoted by selective adsorption of salivary proteins to the streptococcal. **Microbiology**, v.146, p.41-44, 2000.

- O'TOOLE, G.; KAPLAN, H. B.; KOLTER, R. Biofilm formation as microbial development. **Annual Review of Microbiology**, v.54, p.49-79, 2000.
- PAIVA, J. R.; CRISÓSTOMO, J. R.; BARROS, L. M. Recursos genéticos do cajueiro: coleta, conservação, caracterização e utilização. **Fortaleza: Embrapa Agroindustrial Tropical**, 2003. 43p.
- PARAMASHIVAPPA, R.; KUMAR, P. P.; VITHAYATHIL, P. J.; RAO, A. S. Novel method for isolation of major phenolic constituents from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut shell liquid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.2548-2551, 2001.
- PATIL, M. B.; JALALPURI, S. S.; PRAMOD, H. J.; MANVI, F. V. Antiinflammatory activity of the leaves of *Anacardium occidentale* Linn. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.65, p.70-73, 2003.
- PAULA, R. C. M.; RODRIGUES, J. F. Composition and rheological properties of cashew gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale*. **Carbohydrate Polymer**, v.26, p.177-181, 1995.
- PEREIRA, C. V. Ação de amostra de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* sobre diferentes carboidratos com ênfase na cárie dentária: estudo *in vitro*. **Revista da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo**, v.4, p.33-39, 1999.
- PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; HIGINO, J. S.; SAMPAIO, F. C.; ALVES, P. M.; ARAÚJO, C. R. F. Estudos com o extrato da *Punica granatum* Linn. (Romã): efeito antimicrobiano *in vitro* e avaliação clínica de um dentifrício sobre microrganismos do biofilme dental. **Revista Odonto Ciências**, v.20, p.262-269, 2005.
- PEREIRA, M. S. V.; RODRIGUES, O. G.; FEIJÓ, F. M.; ATHAYDE, A. C. R.; LIMA, E. Q.; SOUSA, M. R. Q. Atividade antimicrobiana de extratos de plantas no semi-árido paraibano. **Agropecuária Científica no Semi-árido**, v.2 p.37-43, 2006a.
- PEREIRA, J. V.; SAMPAIO, F. C.; PEREIRA, M. S. V.; MELO, A. F. M.; HIGINO, J. S.; CARVALHO, A. A. T. *In vitro* antimicrobial activity of an extract from *Anacardium occidentale* Linn. on *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. **Odontologia Clínica-Científica**, v.5, p.137-141, 2006b.
- PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; SAMPAIO, F. C., SAMPAIO, M. C. C.; ALVES, P. M.; ARAÚJO, C. R. F.; HIGINO, J. S. Efeito antibacteriano e antiaderente *in vitro* do extrato da *Punica granatum* Linn. sobre microrganismos do biofilme dental. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p.88-93, 2006c.

- PEREIRA, C. Q.; LAVINAS, F. C.; LOPES, M. L. M.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Industrialized cashew juices: variation of ascorbic acid and other physicochemical parameters. **Ciência e Tecnologia de alimentos**, v.28 (Supl.), p.266-270, 2008.
- PINHEIRO, C. U.; ARAÚJO, N. A.; ARAÚJO, G. C. Planta úteis do Maranhão (baixada maranhense). São Luis: EDUFMA/FAPEMA, 2011. 460p.
- PINTO, G. L.; MARTINEZ, M.; MENDOZA, J. A.; OCANDO, E.; RIVAST, C. Comparison of three anacardiaceae gum exudates. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.23, p.151-156, 1995.
- PORTERA, C. Forging a link between biofilms and disease. **Science**, v. 283, p.1837-1839, 1999.
- POULSEN, S.; HOLM, A. K.; RÖLLA, G. Cárie dentária: etiologia, características clínicas e epidemiologia. In: KOCH, G.; MODEÉR, T.; POULSEN, S.; RASMUSSEN, P. **Odontopediatria: uma abordagem clínica**. São Paulo: Ed. Santos, 1992. p.107-116.
- QUEIROZ, C.; SILVA, A. J. R.; LOPES, M. L. M.; FIALHO, E.; VALENTE-MESQUITA, V. L. Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) after processing. **Food Chemistry**, v.125, p.128-132, 2011.
- RAMAGE, G.; SAVILLE, S. P.; THOMAS, D. P.; LÓPEZ-RIBOT, J. L. *Candida* biofilms: an update. **Eukaryotic Cell**, v.4, p.633–638, 2005.
- RAMOS, I. N. C.; VASCONCELOS, L. C. S.; LIMA, M. G. G. C.; FIGUEIREDO, R. L. Q. Candidose bucal em pacientes HIV-positivos. **Jornal Brasileiro de Clínica**, v.3, p.59-61, 1999.
- RAZALI, N.; RASAB, R.; JUNIT, S. M.; AZIZ, A. A. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots. **Food Chemistry**, v.111, p.38-44, 2008.
- RODRIGUES, F. H. A.; FEITOSA, J. P. A.; RICARDO, N. M. P. S.; FRANÇA, F. C. F.; CARIOCA, J. O. B. Antioxidant activity of cashew nut Shell liquid (CNSL) derivatives on the thermal oxidation of synthetic cis-1,4-polysoprene. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.17, p.265-271, 2006.
- RODRIGUES, E. Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river Dweller, Indian and Quilombola). **Journal of Ethnopharmacology**, v.111, p.295-302, 2007.
- RODRIGUES, F. H. A.; FRANÇA, F. C. F.; SOUZA, J. R. R.; RICARDO, N. M. P. S.; FEITOSA, J. P. A. Comparison between physico-chemical properties of the technical cashew nut shell liquid (CNSL) and those natural extracted from solvent and pressing. **Polímeros**, v.21, p.156-160, 2011.

- SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S. Effect of irradiation and storage on the antioxidative activity of cashew nuts. **Radiation Physics and Chemistry**, v.75, p.297-300, 2006.
- SAMARANAYAKE, L. P. Oral mycoses in HIV infection. **Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology**, v.73, p.171–180, 1992.
- SANTOS, G. H. F.; SILVA, E. B.; SILVA, B. L.; SENA, K. X. F. R.; LIMA, C. S. A. Influence of gamma radiation on the antimicrobial activity of crude extrats of *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae, rich in tannins. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.21, p.444-449, 2011.
- SANTOS, F. O. Atividades biológicas de *Anacardium occidentale* (Linn). 2011. 57f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia – Sistema Agrossilvipastoris no Semi-Árido) - Universidade Federal de Campinas Grande, Paraíba, 2011.
- SANTOS, R. P.; SANTIAGO, A. A. X.; GADELHA, C. A. A.; CAJAZEIRAS, J. B.; SANTOS, R. P.; FREIRE, V. N. Production and characterization of the cashew (*Anacardium occidentale* L.) peduncle bagasse ashes. **Journal of Food Engineering**, v.79, p.1432-1437, 2007a.
- SANTOS, E. B.; SLUSARZ, P. A. A.; KOZLOWSKI JUNIOR, V. A.; SCHWARTZ, J. P. Eficácia antimicrobiana de produtos naturais frente a microrganismos causadores da endocardite bacteriana. **Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da saúde**, v.13, p.67-72, 2007b.
- SCHEIE, A. A.; PETERSEN, F. C. Antimicrobianos no controle da cárie. In: FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico**. São Paulo: Ed. Santos, 2011. p.265-277.
- SCHMOURLO, G.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; ALVIANO, C. S.; COSTA, S. S. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.96, p.563-568, 2005.
- SETIANTO, W. B.; YOSHIKAWA, S.; SMITH JR, R. L.; INOMATA, H.; FLORUSSE, L. J., PETERS, C. J. Pressure profile separation of phenolic liquid compounds from cashew (*Anacardium occidentale*) shell with supercritical carbon dioxide and aspects of its phase equilibria. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 48, p.203-210, 2009.
- SILVA, J. G.; SOUZA, I. A; HIGINO, J. S.; SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V. Antimicrobial activity of the hydroalcoholic extract of *Anacardium occidentale* Linn. against multi-drug resistant strains of *Staphylococcus aureus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.17, p.572-577, 2007.

- SILVA, M. S. A.; SILVA, M. A. R.; HIGINO, J. S.; PEREIRA, M. S. V.; CARVALHO, A. A. T. Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. sobre bactérias orais plantônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p.236-240, 2008.
- SILVA, A. B.; TEIXEIRA, L. M.; GALDINO, R. M. N. Atividade antibacteriana *in vitro* do extrato hidroalcoólico de *Anacardium occidentale* Linn. 2009. Disponível em: <http://eventosufrpe.com.br/jepex2009/Cr/resumos/R0177-1.pdf> . Acesso em: 24/11/2010.
- SILVA, T. A.; GUERRA, R. N. M. Processo para obtenção de flores de *Anacardium occidentale* L. (cajeeiro), extrato hidro-alcóolico, liofilizado, seco por atomização, chá, suas composições farmacêuticas e uso terapêutico. Disponível em: http://revista.inpi.gov.br/INPI_UPLOAD/Revistas/PATENTES2085.pdf, pag 100. Acesso em 15/05/2011.
- SIVAGURUNATHAN, P.; SIVASANKARI, S.; MUTHUKKARUPPAN, S. M. Characterisation of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) fruits collected from Ariyalur district. **Journal of Biosciences Research**, v.1, p.101-107, 2010.
- SIXOU, M.; DIOUF, A.; ALVARES, D. Biofilm buccal et pathologies buccodentaires. **Antibiotiques**, v. 9, p.181-188, 2007.
- SMITH, D. J.; SHOUSHARI, B.; HESCHEL, R.; L.; KING, W. F.; TAUBMAN, M. A. Immunogenicity and protective immunity induced by synthetic peptides associated with a catalytic subdomain of mutans group streptococcal glucosyltransferase. **Infection and Immunity**, v.65, p.4424-4430, 1997.
- SOARES, S. P.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microorganismos da cárie dental. **Revista Odonto Ciência**, v.23, p.141-144, 2008.
- SOKENG, S. D.; LONTSI, D.; MOUNDIPA, P. F.; JATSA, H. B.; WATCHO, P.; KAMTCHOUING, P. Hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* L. methanol extract and fractions on streptozotocin-induced diabetic rats. **Global Journal of Pharmacology**, v.1, p.1-5, 2007.
- SOUZA, C. P.; MENDES, N. M.; JANNOTTI-PASSOS, L. K.; PEREIRA, J. P. O uso da casca da castanha do caju, *Anacardium occidentale*, como moluscicida alternativo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 34, p.459-466, 1992.
- STENDERUP, A. Oral mycology. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 48, p. 3-10, 1990.

- SUDDHASTHIRA, T.; THAWEBEON, S.; DENDOUNG, N.; THAWEBEON, B.; DECHKUNAKORN, S. Antimicrobial activity of *Cratoxylum formosum* on *Streptococcus mutans*. Southeast Asian. **Journal of Tropical Medicine & Public Health**, v.37, p.1156-1159, 2006.
- SULLIVAN, J. T.; RICHARDS, C. S.; LLOYD, H. A.; KRISHNA, G. Anacardic acid: molluscicide in cashew nut shell liquid. **Journal of Medicinal Plant Research**, v.44, p.175-177, 1982.
- SWANSTON-FLATT, S. K., DAY, C., FLAT, P. R., GOULD, B. J., BAILEY, C. J. Glycaemic effects of traditional European plant treatments for diabetes. Studies in normal and Streptozotocin diabetic mice. **Diabetes**, v.10, p.69-73, 1989.
- TANNOCK, G. W. Identification of lactobacilli and bifidobacteria. **Current Issues in Molecular Biology**, v.1, p.53-64, 1999.
- TANZER, J. M.; LIVINGSTON, J.; THOMPSON, A. M. The microbiology of primary dental caries in humans. **Journal of Dental Education**, v. 65, p.1028-1037, 2001.
- TEDONG, L.; DIMO, T.; DZEUFLET, P. D. D.; ASONGALEM, A. E.; SOKENG, D. S.; CALLARD, P.; FLEJOU, J. F.; KAMTCHOUING, P. Antihyperglycemic and renal protective activities of *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) leaves in streptozotocin induced diabetic rats. **The African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines**, v.3, p.23-35, 2006.
- TÉDONG, L.; DZEUFLET, D. P. D.; DIMO, T.; ASONGALEM, A. E.; SOKENG, S. N.; FLEJOU, J. F.; CALLARD, P.; KAMTCHOUING, P. Effet de l'extrait à l'hexane des feuilles d'*Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) sur la fonction de reproduction chez les rats rendus diabétiques par la streptozotocine. **Phytothérapie**, v.5, p.182-193, 2007.
- TELES, R. P.; TELES, F. R. F. Antimicrobial agents used in control of periodontal biofilms: effective adjuncts to mechanical plaque control? **Brazilian Oral Research**, v.23, p.39-48, 2009.
- THAWEBEON, S., THAWEBEON, B. In vitro antimicrobial activity of *Ocimum americanum* L. essential oil against oral microorganisms. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health**, v. 40, p.1025-1033, 2009.
- TORQUATO, D. S.; FERREIRA, M. L.; SÁ, G. C.; BRITO, E. S.; PINTO, G. A. S.; AZEVEDO E. H. F. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.20, p.505-507, 2004.

- TORRES, C. R. G.; KUBO, C. H.; ANIDO, A. A.; RODRIGUES, J. R. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia. **Pós-Graduação Revista da Faculdade de odontologia de São José dos Campos**, v.3, p.43-52, 2000.
- TORRUNGRUANG, K.; VICHENROJ, P.; CHUTIMAWORAPAN, S. Antibacterial activity of mangosteen pericarp extract against cariogenic *Streptococcus mutans*. **Chulalongkorn University Dental Journal**, v.30, p.1-10, 2007.
- TOYOMIZU, M.; SUGIYAMA, S.; JIN, R. L.; NAKATSU, T. α -Glucosidase and aldose reductase inhibitors: constituents of cashew, *Anacardium occidentale*, nut shell liquids. **Phytotherapy Research**, v.7, p.252-257, 1993.
- TREVISAN, M. T. S.; PFUNDSTEIN, B.; HAUBNER, R.; WÜRTELE, G.; SPIEGELHALDER, B.; BARTSCH, H.; OWEN, R. W. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. **Food and Chemical Toxicology**, v.44, p.188-197, 2006.
- TROX, J.; VADIVEL, V.; VETTER, W.; STUETZ, W.; SCHERBAUM, V.; GOLLA, U.; NOHR, D.; BIESALSKI, H. K. Bioactive compounds in cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) kernels: effect of different shelling methods. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 58, p.5341-5346., 2010.
- TWETMAN, S. Antimicrobials in future caries control? **Caries Research**, v.38, p.223-229, 2004.
- USHANANDINI, S.; NAGARAJU, S.; NAYAKA, S. C; KUMAR, K. H.; KEMPARAJU, K. S. The anti-ophidian properties of *Anacardium occidentale* bark extract. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v.31, p.607-615, 2009.
- UZEDA, M. **Microbiologia Oral**: etiologia da cárie, doença periodontal e infecções endodônticas. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. 104p.
- VANDERLINDE, F. A.; LANDIM, H. F.; COSTA, E. A.; GALDINO, M.; MACIEL, M. A. M.; ANJOS, G. C.; MALVAR, D. C.; CÔRTEZ, W. S.; ROCHA, F. F. Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.45, p.437-442, 2009.
- VICENT, O. S.; ADEWALE, I. T.; DARE, O., RACHAEL, A.; BOLANTE, J. O. Proximate and mineral composition of roasted and defatted cashew nut (*Anacardium occidentale*) flour. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.8, p.1649-1651, 2009.

- VIRBOGA – *Anacardium occidentale* - 10 Jun 2005. Disponível em: http://www.virboga.de/Anacardium_occidentale.htm. Acesso em: 18/10/2011.
- WEYNE, S. Curso para atualização e educação continuada em odontologia preventiva (cariologia). **Revista Brasileira de Odontologia**, v. 43, p.59-68, 1986.
- WEYNE, S. Cariologia. In: BARATIERI, L. N. **Dentística**: Procedimentos preventivos e restauradores. Rio de Janeiro: Quintessence, 1989. p.1-42.
- WIMPENNY, J.; MANZ, W.; SZEWZYK, U. Heterogeneity in biofilms. **Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews**, v. 24, p. 661-671, 2000.
- YATSUDA, R.; ROSALEN, P. L.; CURY, J. A.; MURATA, R. M.; REHDER, V. L. G.; MELO, L. V. ; KOO, H. Effects of *Mikania genus* plants on growth and cell adherence of *mutans streptococci*. **Jounal of Ethnopharmacology**, v.97, p.183-189, 2005.
- ZANATTA, F. B.; RÖSING, C. K. Clorexidina: mecanismo de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival **Scientific-A**, v.1, p.35-43, 2007.

ANEXO 1

Depositar

< Uso exclusivo do INPI >

23 JUL 15 000063

Esopo reservado ao protocolo

PROT. 1003772336



PI1002268-6

DEPÓSITO DE PEDIDO DE PATENTE OU DE CERTIFICADO DE ADIÇÃO

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:
O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas

1. Depositante (71):

1.1 Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

1.2 Qualificação: AUTARQUIA FEDERAL

1.3 CNPJ/CPF: 06279103/0001-19

1.4 Endereço Completo: AV. DOS PORTUGUESES S/N, CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO BACANGA

1.5 CEP: 65080-040 1.6 Telefone: (98) 33018548 1.7 Fax:

1.8 E-mail: rnsguerra@pq.cnpq.br

☐ continua em folha anexa

2. Natureza: ☒ Invenção ☐ Modelo de Utilidade ☐ Certificado de Adição

Escreva, obrigatoriamente, e por extenso, a Natureza desejada:

3. Título da Invenção ou Modelo de Utilidade ou Certificado de Adição(54):
"COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS E ODONTOLÓGICAS À BASE DE FLORES OU EXTRATO DE PARTES AÉREAS DE ANACARDIUM OCCIDENTALE E USO DESSAS COMPOSIÇÕES"

☐ continua em folha anexa

4. Pedido de Divisão: do pedido Nº _____ Data de Depósito: _____

5. Prioridade: ☐ interna ☐ unionista

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

País ou organização de origem	Número de depósito	Data do depósito

6. Inventor (72):

☐ Assinale aqui se o(s) mesmo(s) requer(em) a não divulgação de seu(s) nome(s)

6.1 Nome: RUBENICE AMARAL DA SILVA

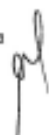
6.2 Qualificação: MESTRADO 6.3 CPF: 10032274300

6.4 Endereço completo: RUA RIO ANIL, QD 7, CASA 16-RES. MAR DEL PLATA-REC.DOS VINHAIS

6.5 CEP: 65070-018 6.6 Telefone: (98) 32362218 6.7 Fax:

6.8 E-Mail: rubi@ufma.br

☒ continua em folha anexa



INPI Formulário 1.01 - Depósito de Pedido de Patente ou de Certificado de Adição (folha 1/2)

7. Declaração na forma do item 3.2 do Ato Normativo nº 127/97:

☐ 7.1 Declaro que os dados fornecidos no presente formulário são idênticos ao da certidão de depósito ou documento equivalente do pedido cuja prioridade está sendo reivindicada.

☐ em anexo

8. Declaração de divulgação anterior não prejudicial: (Período de Graça):
(art. 12 da LPI e item 2 do AN nº 127/97)

☐ em anexo

9. Procurador (74)

9.1 Nome:

9.2 CNPJ/CPF:

9.3 API/CAB:

9.4 Endereço completo:

9.5 CEP:

9.6 Telefone:

9.7 Fax:

9.8 E-Mail:

10. Listagem de seqüências Biológicas (documentos anexados) (se houver):

- ☐ Listagem de seqüências em arquivo eletrônico: n° de CDs ou DVDs (original e cópia).
☐ Código de controle alfanumérico no formato de código de barras: fls.
☐ Listagem de seqüências em formato impresso: fls.
☐ Declaração de acordo com o artigo da Resolução INPI nº 228/09: fls.

11. Documentos anexados (assinale e indique também o número de folhas):
(Deverá ser indicado o n° total de somente uma das vias de cada documento)

☒ 11.1 Guia de Recolhimento	01 fls.	☒ 11.5 Relatório descritivo	06 fls.
☐ 11.2 Procuração	fls.	☒ 11.6 Reivindicações	02 fls.
☐ 11.3 Documentos de Prioridade	fls.	☐ 11.7 Desenhos	fls.
☐ 11.4 Doc. de contrato de trabalho	fls.	☒ 11.8 Resumo	01 fls.
☒ 11.9 Outros que não aqueles definidos no campo 11 (especificar) Folha complementar do item 6			01 fls.

12. Total de folhas anexadas (referentes aos campos 10 e 11): 11 fls.

13. Declaro, sob penas da Lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

São Luís (MA), 23/07/2010
Local e Data

Antonio José Silva Oliveira
Vice-Presidente do INPI
Mat. UPI/MA - 4055-B
Mat. SIAPE - 040883-3

ANEXO 2

16/01/2012
Responder ▼

----- Forwarded message -----

From: **Journal of Ethnopharmacology** <jethnoph@chem.leidenuniv.nl>

Date: 2012/1/16

Subject: A manuscript number has been assigned to your paper

To: roguerra@globo.com, rnmguerra@pq.cnpq.br

Submission Confirmation for your paper

ocultar detalhes 20:43 (2 minutos atrás)

Dear Dr.Guerra,

Your submission entitled "Anacardium occidentale L as antimicrobial agent" has been received by journal Journal of Ethnopharmacology

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Elsevier Editorial as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/jep/>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Journal of Ethnopharmacology

For further assistance, please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

Rosane Guerra
Universidade Federal do Maranhão
Laboratório de Imunofisiologia
Campus Universitário do Bacanga, CCBS
Bloco 1 sala 1A - Centro - São Luís - MA
650580-085
e-mail: roguerra@globo.com ou rnmguerra@pq.cnpq.br
tel 55 98 3301-8548 ou 8119-4435
Skype rnmguerra2012