



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**JOSINALDO GUEDES RODRIGUES JÚNIOR**

**PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E TOXICIDADE  
DO EXTRATO DE *Anacardium occidentale* Linn. SOBRE *Candida* sp**

**CAMPINA GRANDE – PB**

**JULHO 2022**

**JOSINALDO GUEDES RODRIGUES JÚNIOR**

**PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E TOXICIDADE  
DO EXTRATO DE *Anacardium occidentale* Linn. SOBRE *Candida* sp**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Cirurgião-dentista.

**Área de Concentração:** Odontologia

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Jozinete Vieira Pereira Marques

**Coorientador:** Prof. Dr. Ernani Canuto Figueirêdo Júnior

**CAMPINA GRANDE - PB**

**JULHO 2022**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

R696p Rodrigues Junior, Josinaldo Guedes.  
Perfil fitoquímico, atividade antifúngica e toxicidade do extrato de *Anacardium Occidentale* linn. sobre *Candida sp* [manuscrito] / Josinaldo Guedes Rodrigues Junior. - 2022.  
41 p. : il. colorido.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2022.

"Orientação : Profa. Dra. Jozinete Vieira Pereira Marques ,  
Coordenação do Curso de Odontologia - CCBS."

"Coorientação: Prof. Dr. Ernani Canuto Figueirêdo Júnior ,  
Coordenação do Curso de Odontologia - CCTS."

1. *Anacardium occidentale*. 2. Candidíase oral. 3.

Fitoterapia. I. Título

21. ed. CDD 615.321

**JOSINALDO GUEDES RODRIGUES JÚNIOR**

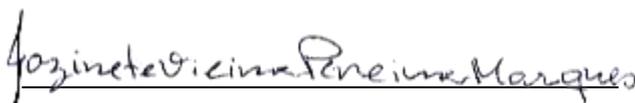
**PERFIL FITOQUÍMICO, ATIVIDADE ANTIFÚNGICA E TOXICIDADE  
DO EXTRATO DE *Anacardium occidentale* Linn. SOBRE *Candida* sp**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Cirurgião-dentista.

**Área de Concentração:** Odontologia

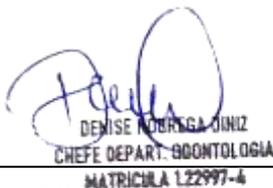
**Aprovado em:** 20 / 07 / 2022

**BANCA EXAMINADORA**



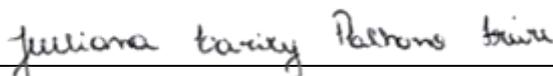
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Jozinete Vieira Pereira Marques (Orientadora)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

  
DENISE NÓBREGA DINIZ  
CHEFE DEPART. ODONTOLOGIA  
MATRICULA 1.22997-4

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Denise Nóbrega Diniz (Examinadora Interna)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Juliana Cariry Palhano Freire (Examinadora Interna)

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Dedico este trabalho à memória de José Cândido do Nascimento, meu avô, de quem me despedi em 2022. Ele que desde o início do curso me apoiou e de diversas maneiras contribuiu para que eu chegasse até aqui.

*Te amo, vô.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que me conduziu com saúde, determinação e foco durante esses cinco anos de graduação, me dando forças e amparo nos momentos difíceis. Só eu e Ele sabemos o quanto um dia almejei entrar nesse curso e, de mesmo modo, só eu e Ele sabemos o quão feliz e realizado estou em concluí-lo.

À minha mãe, Severina Ribeiro Rodrigues, pelo amor incondicional, pela dedicação incomparável, por todas as orações, por todo colo e acalento. Não conheço mulher com coração mais bondoso e cheio de afeto. Sou um verdadeiro privilegiado em ser seu filho.

Ao meu pai, Josinaldo Guedes Rodrigues, meu grande incentivador, desde criança, a sempre me dedicar e dar o meu melhor nos estudos. Meu maior apoiador em todas as empreitadas da minha vida, meu exemplo de integridade e retidão.

À minha madrinha Josilene dos Anjos, pelo suporte irrestrito durante todo esse ciclo, jamais serei capaz de retribuir tamanha generosidade que se fez prova de amor por mim. À Vanielson Gonçalo, pela excelente convivência, parceria e amizade.

À minha tia Geralda e ao seu esposo Cícero que, direta ou indiretamente contribuíram para essa conquista. Sempre soube que podia contar com vocês e, por diversos momentos, vocês foram a quem recorri.

Aos meus tios José (Deca) e Joel, por todo auxílio e suporte de sempre. Desde criança soube que teria vocês por mim em qualquer situação. À Vânia, a quem tenho carinho de mãe e que já demonstrou por diversas vezes ser família.

Aos meus avós Cícera (*in memoriam*), Cleonice (*in memoriam*), Severino (*in memoriam*) e José (*in memoriam*). Aos meus tios Antônio/Toinho (*in memoriam*) e Josinete (*in memoriam*). Infelizmente não puderam estar compartilhando dessa felicidade junto de mim, mas sei que de onde estiverem estão igualmente orgulhosos.

À todos os meus tios e primos que sempre vibraram por cada conquista minha. Vocês foram essenciais para que eu tivesse força de seguir em frente rumo à realização do meu sonho. Sou grato a Deus pela família que somos.

À minha orientadora, Jozinete Vieira, por tamanho empenho, ternura, sabedoria e incentivo. A senhora teve uma enorme contribuição para minha formação, me abriu portas e esteve sempre de mãos dadas comigo me guiando pelos melhores caminhos durante essa graduação. Obrigado pela excelente relação de sempre. Não pararemos por aqui.

Ao meu coorientador e amigo Ernani Figueirêdo, que com toda sua paciência me ensinou tudo que sei no cotidiano do laboratório. Você, de fato, ensina com amor. À Bruna

Palmeira, por ter me ajudado nos meus primeiros passos nesta pesquisa, sempre me passando segurança e entusiasmo.

Às professoras que compõem a banca: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Denise Nóbrega, a quem tive a oportunidade de conviver durante mais de quatro anos em seu projeto de extensão. Sempre gentil e disposta a ajudar, pessoas como você são raras, gratidão por tê-la conhecido; e a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Juliana Cariry, que por vezes foi meu braço direito no laboratório durante as análises.

À todos os professores do Departamento de Odontologia. Cada um de vocês contribuiu de alguma forma para minha formação. Tenho orgulho de dizer que me formei sob os ensinamentos dos melhores da odontologia paraibana. Levarei sempre vocês comigo onde quer que eu vá. Até breve.

A todos os funcionários que fazem do Departamento de Odontologia, em especial à Cris, Dione, Salomé, Júnia, Clécia, Filipe e Edna. Vocês fizeram a diferença diariamente em minha vida todo esse tempo. Sentirei saudades, espero vê-los o quanto antes.

Aos meus amigos do curso, que se fizeram irmãos em muitos momentos. Meu agradecimento especial à Larissa Raquel, minha dupla, que tanto me ajudou e contribuiu com minha evolução pessoal e profissional. Igualmente em especial agradeço Gabriella Cordeiro, com quem compartilho minha vida e está presente em todos os meus passos, rogo a Deus que Ele nos preserve nessa mesma unidade.

Aos demais integrantes da turma 84, especialmente a João Mykael, Janaína Araújo, Felipe Araújo, Natan Oliveira, Libório Neto, Laysse Farias, Elaine Pinheiro, Maria Carolina e Mateus Wilker. Vocês tornaram tudo mais leve, divertido e aconchegante. Amo cada um de vocês!

Aos meus amigos de infância e adolescência, Andressa Alves, Gyovanna Lany, Keila Caroline e Geraldo Júnior, pelo apoio e amizade em todos esses anos. À Mabel (*in memoriam*) que durante quase doze anos foi meu anjo da guarda, meu refúgio e um dos maiores motivos de alegria da minha vida. À Milu, que chegou como um furacão e já conquistou um espaço enorme no meu coração.

Por fim, meu coração se enche de gratidão, orgulho e saudade por esse ciclo que se encerra. Desejo sucesso à todos que estiveram comigo nessa longa caminhada. Cada um citado aqui possui um lugarzinho especial na minha vida e jamais será esquecido. A todos que de alguma maneira me ajudaram nesse processo minha eterna gratidão!

## RESUMO

*Anacardium occidentale* Linn. é uma planta comumente encontrada na região do semiárido brasileiro. Conhecida popularmente como cajueiro, o vegetal demonstra diversas atividades benéficas à saúde humana e vem sendo amplamente estudado como alternativa para o tratamento de afecções orais. O objetivo desse estudo foi avaliar *in vitro* o perfil fitoquímico, a atividade antifúngica do extrato da casca do caule de *A. occidentale* sobre *Candida* ssp e isolados clínicos, bem como sua toxicidade. As cascas do caule de *A. occidentale* foram coletadas no período matutino, no mês de setembro de 2019, na zona rural do município de Campina Grande, Estado da Paraíba, Brasil. Preparou-se o extrato hidroetanólico utilizando o método de extração por maceração exaustiva. Após a produção do extrato, foi realizado a análise do perfil fitoquímico por meio de *screening* qualitativo, no qual incluiu-se testes para a identificação de saponinas, polissacarídeos, flavonoides, alcaloides, taninos e fenólicos totais, esteroides e triperenos. Para os ensaios microbiológicos foram utilizadas cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 90030), *Candida krusei* (ATCC 34135), *Candida tropicalis* (ATCC 750), provenientes da Fundação Oswaldo Cruz/RJ, e isolados clínicos, *Candida albicans* (A1 e A2). Em seguida, foi investigada a atividade antifúngica do extrato por meio da determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM), através da técnica de microdiluição em caldo. A citotoxicidade foi realizada pelo teste de hemólise em eritrócitos humanos. A caracterização fitoquímica sugeriu a presença majoritária de taninos, fenólicos totais e alcaloides, com moderada concentração de saponinas. O extrato apresentou potencial antifúngico sobre o crescimento de espécies de *Candida* e isolados clínicos, demonstrando atividade fungistática, com valores de CIM entre 250 e 500 µg/mL. Os resultados dos testes de citotoxicidade sugerem que nas concentrações de hemólise analisadas, o extrato de *A. occidentale* apresenta baixa atividade hemolítica em comparação ao grupo controle. O cajueiro é uma planta com bom potencial antimicrobiano, e com aceitáveis concentrações de compostos fitoquímicos apresentando baixa citotoxicidade. Diante dos resultados apresentados, há necessidade da realização de mais análises como atividade antioxidante e toxicidade *in vivo*, visando uma possível utilização clínica do extrato como terapia antifúngica alternativa na clínica odontológica.

**Palavras-chave:** *Anacardium occidentale*. *Candida*. Candidíase oral. Fitoterapia.

## ABSTRACT

*Anacardium occidentale* Linn. is a plant commonly found in the Brazilian semiarid region. Popularly known as cashew, the plant demonstrates several activities beneficial to human health and has been widely studied as an alternative for the treatment of oral disorders. The objective of this study was to evaluate in vitro the phytochemical profile, the antifungal activity of the stem bark extract of *A. occidentale* on *Candida* spp and clinical isolates, as well as its toxicity. The stem barks of *A. occidentale* were collected in the morning period, in September 2019, in the rural area of the municipality of Campina Grande, State of Paraíba, Brazil. The hydroethanolic extract was prepared using the exhaustive maceration extraction method. After the production of the extract, the analysis of the phytochemical profile was carried out through qualitative screening, which included tests for the identification of saponins, polysaccharides, flavonoids, alkaloids, tannins and total phenolics, steroids and triptenes. For the microbiological assays, strains from the American Type Culture Collection (ATCC) were used: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 90030), *Candida krusei* (ATCC 34135), *Candida tropicalis* (ATCC 750), from Fundação Oswaldo Cruz/ RJ, and clinical isolates, *Candida albicans* (A1 and A2). Then, the antifungal activity of the extract was investigated by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (CFM), using the broth microdilution technique. Cytotoxicity was performed by the hemolysis test in human erythrocytes. The phytochemical characterization suggested the majority presence of tannins, total phenolics and alkaloids, with a moderate concentration of saponins. The extract showed antifungal potential on the growth of *Candida* species and clinical isolates, demonstrating fungistatic activity, with MIC values between 250 and 500 µg/mL. The results of the cytotoxicity tests suggest that at the hemolysis concentrations analyzed, the *A. occidentale* extract has low hemolytic activity compared to the control group. The cashew tree is a plant with good antimicrobial potential, and with acceptable concentrations of phytochemical compounds with low cytotoxicity. In view of the results presented, there is a need to carry out more analyzes such as antioxidant activity and in vivo toxicity, aiming at a possible clinical use of the extract as an alternative antifungal therapy in the dental clinic.

**Keywords:** *Anacardium occidentale*. *Candida*. Candidiasis, Oral. Phytotherapy.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Imagens do processo de extração (A), filtragem simples (B) e filtragem á vácuo (C) durante a produção do extrato do cajueiro.....**18**
- Figura 2** – Imagens do extrato filtrado (A) e durante o processo de rotaevaporação (B).....**19**
- Figura 3** – Imagem durante a execução dos ensaios microbiológicos no laboratório.....**21**
- Figura 4** – Imagens ilustrativas dos experimentos da 3ª triplicata da CIM (A) e da 2ª triplicata da CFM (B) para a linhagem de *C. albicans* (ATCC 10231), respectivamente.....**22**
- Figura 5** – Imagem ilustrativa dos experimentos de citotoxicidade por hemólise em eritrócitos humanos.....**23**
- Figura 6** – Imagens dos testes de identificação da presença de saponinas (A e B) e polissacarídeos (C e D), respectivamente, no extrato, com destaque para a presença da espuma persistente na primeira amostra, indicando resultado positivo.....**24**
- Figura 7** – Imagens dos testes de identificação da presença de taninos e fenólicos totais (A), flavonoides (B) e esteroides e triperenos (C), respectivamente, com destaque para a presença da coloração fortemente azulada na primeira amostra, indicando resultado positivo.....**25**
- Figura 8** – Imagem dos testes de identificação da presença de alcaloides, com destaque para a presença da precipitação e da turvação com os reagentes de Mayer e Dragendorff, respectivamente, evidenciando resultado positivo.....**26**
- Gráfico 1** – Efeitos hemolíticos do extrato de *A. occidentale* em eritrócitos humanos do tipo sanguíneos A, em comparação ao controle negativo.....**28**
- Gráfico 2** – Efeitos hemolíticos do extrato de *A. occidentale* em eritrócitos humanos do tipo sanguíneos B, em comparação ao controle negativo.....**29**
- Gráfico 3** – Efeitos hemolíticos do extrato de *A. occidentale* em eritrócitos humanos do tipo sanguíneos O, em comparação ao controle negativo.....**29**

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** – Comparativo dos resultados qualitativos da presença de compostos no extrato de *A. Occidentale*.....**27**
- Tabela 2** – Distribuição da CIM e da CFM do extrato de *A. occidentale* e controles positivos de acordo com as espécies de *Candida*. Os valores de CIM e CFM foram expressões em  $\mu\text{g/mL}$ .....**27**

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**A. *occidentale*** – *Anacardium occidentale*

**ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

**Ao** – *Anacardium occidentale*

**ATCC** – *American Type Culture Collection*

**C (+)** – Controle positivo

**C (-)** – Controle negativo

**C. *albicans*** – *Candida albicans*

**C. *guilliermondii*** - *Candida guilliermondii*

**C. *glabrata*** – *Candida glabrata*

**C. *krusei*** – *Candida krusei*

**CFM** – Concentração Fungicida Mínima

**CIM** – Concentração Inibitória Mínima

**CLSI** – Clinical Laboratory and Standards Institute

**CV** – Controle do Veículo

**LAC** – Laboratório de Análises Clínicas

**OMS** – Organização Mundial da Saúde

**S. *mitis*** – *Streptococcus mitis*

**S. *mutans*** – *Streptococcus mutans*

**S. *sanguis*** – *Streptococcus sanguinis*

**S. *aureus*** – *Staphylococcus aureus*

**UEPB** – Universidade Estadual da Paraíba

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>16</b>
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos.....	16
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
3.1 Delimitação do estudo .....	17
3.2 Local da pesquisa.....	17
3.3 Aspectos éticos .....	17
3.4 Material botânico .....	17
3.4.1 Obtenção do extrato .....	18
3.5 Caracterização química ( <i>Screening</i> fitoquímico) .....	19
3.6 Ensaios microbiológicos .....	20
3.6.1 Microrganismos envolvidos e preparo do inóculo .....	20
3.6.2 Reativação dos microrganismos .....	20
3.6.3 Determinação da atividade antifúngica .....	21
3.7 Citotoxicidade por hemólise .....	22
3.7.1 Preparo da suspensão de hemácias .....	22
3.7.2 Preparo da solução teste de extrato .....	23
3.7.3 Ensaio de citotoxicidade por hemólise .....	23
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>24</b>
4.1 <i>Screening</i> fitoquímico.....	24
4.1.1 Saponinas .....	24
4.1.2 Polissacarídeos.....	24
4.1.3 Taninos e fenólicos totais.....	24
4.1.4 Flavonoides .....	25
4.1.5 Esteroides e triterpenos .....	25
4.1.6 Alcaloides .....	25
4.1.7 Qualificação fitoquímica.....	26
4.2 Determinação da atividade antifúngica.....	27
4.3 Ensaios de citotoxicidade.....	28
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>

<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>35</b>
<b>ANEXO: COMPROVANTE DE ENVIO DO DO PROJETO AO CEP .....</b>	<b>41</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A humanidade utiliza plantas como método terapêutico há milênios. Essa prática está intimamente agregada aos valores culturais e históricos das civilizações. Atualmente, os fitoterápicos possuem reconhecimento científico da Organização Mundial da Saúde (OMS) e de outros órgãos regulamentadores mundiais (NÓBREGA, 2017). O uso da fitoterapia tradicional é fundamental para a terapia médica ao redor do mundo e pode representar uma importante e promissora alternativa de combate aos microrganismos resistentes aos mecanismos antimicrobianos tradicionais (REIS *et al.*, 2015).

De acordo com o Ministério da Saúde, medicamento fitoterápico é definido como aquele proveniente exclusivamente de matéria-prima ativa vegetal, com sua eficácia comprovada por evidências clínicas e por constância de sua qualidade, sendo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) responsável por registrar e regulamentar esses produtos (BRASIL, 2014).

A grande biodiversidade encontrada no Brasil faz com que o país se destaque na perspectiva do desenvolvimento sustentável de novos produtos farmacêuticos naturais (MARQUES *et al.*, 2019; HASENCLEVER *et al.*, 2017). Nesse contexto, o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) possui grande relevância econômica para o nordeste brasileiro, sobretudo devido a sua boa adaptação ao clima semiárido da região e aos baixos custos necessários para o seu cultivo (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2016), fazendo com que a árvore se destaque em estudos sobre as propriedades das plantas da Caatinga (MESQUITA *et al.*, 2017).

*Anacardium occidentale* L. encontra-se distribuída na maioria das regiões tropicais do mundo, desde a Flórida, nos Estados Unidos da Américas, até a África do Sul. Em todo o Brasil existem pelo menos vinte espécies conhecidas de *Anacardium occidentale* L., sendo o país o provável local de origem da planta (BRASIL, 2015). A literatura relata diversas atividades benéficas identificadas nos extratos das partes de *A. occidentale*, destacando-se as propriedades antioxidante, anti-inflamatória, antidiarreica, antitumoral, anticâncer, antimutagênica e antimicrobiana (LEITE *et al.*, 2016), podendo apresentar também ação contra diabetes, reumatismo e úlceras (SANTOS *et al.*, 2018).

O extrato etanólico da casca do caule do cajueiro apresenta abundância em compostos fenólicos e considerável atividade antioxidante, isso ocorre provavelmente devido a sua

composição, em especial pela presença de ácidos anacárdicos e taninos (CHAVES *et al.*, 2010).

Extratos obtidos através de diferentes regiões anatômicas do cajueiro têm demonstrado atividade antimicrobiana no combate a microrganismos causadores de afecções orais (RIBEIRO *et al.*, 2020). Especificamente em relação a extratos obtidos a partir da casca do caule, os estudos de Gomes *et al.* (2016) evidenciaram a eficácia do efeito clínico de um enxaguatório bucal contendo o óleo essencial de *A. occidentale*, no controle da placa bacteriana e da gengivite, comparando sua ação à clorexidina. Silva *et al.* (2007) e Souza *et al.* (2006) também comprovam a atividade antimicrobiana do extrato hidroalcolico da casca do caule do cajueiro sobre bactérias patogênicas orais (*S. mitis*, *S. mutans*, *S. sanguis* e *S. aureus*), evidenciando seu importante e promissor potencial terapêutico contra infecções humanas.

Além disso, dados de Corrêa (2017) evidenciam também existência de atividade antifúngica de diversos extratos vegetais, dentre eles o de *Anacardium occidentale*, frente á principais espécies fúngicas envolvidas na etiologia da candidose bucal, como *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. guilliermondii*. Evidenciando-se a presença de efeito antifúngicos sobre esses microrganismos.

Os fungos do gênero *Candida* são classificados como componentes da microbiota normal de diversas regiões do organismo humano, tais como a pele, a boca, o intestino grosso e os sistemas reprodutivo e urinário (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012). Isso acontece devido aos seus atributos de biologia celular, que os permitem colonizar com frequência indivíduos saudáveis (DANTAS *et al.*, 2016).

A candidose oral tem sua etiologia frequentemente associadas às espécies fúngicas *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*, estando diversos fatores locais e sistêmicos relacionados ao desenvolvimento dessa infecção, tais como: disfunção salivar, má higiene, tabagismo, tratamentos antineoplásicos como quimio e radioterapia, dentre outros (VILA *et al.*, 2020).

Esses microrganismos costumam ser resistentes a fagocitose, sendo esse um fator importante para a sua patogenicidade. Mais frequentemente acometem recém-nascidos, pessoas tratadas com antibióticos de amplo espectro e que fazem uso crônico de corticosteroides. Pacientes portadores do Vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV/AIDS) (TORTORA; FUNKE; CASE, 2012), diabéticos, e pessoas em tratamento antineoplásico

(radio e quimioterapia), bem como portadores de próteses dentárias também são especialmente propensos.

Dentre os principais grupos de fármacos utilizados para o tratamento dessas infecções, destacam-se os antifúngicos azólicos. Contudo, estudos epidemiológicos recentes destacam o desenvolvimento emergente de resistência intrínseca a esses medicamentos, gerando um problema gradual de nível elevado no contexto clínico global (WHALEY *et al.*, 2017).

O aumento considerável da utilização de drogas antifúngicas é relatado como um dos fatores que agravam a resistência dos fungos causadores de infecções em humanos, evidenciando a necessidade do estabelecimento de novos protocolos e manejos eficazes para o tratamento das doenças fúngicas (VIEIRA; SANTOS, 2017). Nesse contexto, destacam-se a importância do desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas provenientes de plantas medicinais. Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi realizar um estudo de prospecção fitoquímica do extrato do caule do cajueiro e avaliar *in vitro* a atividade antifúngica sobre espécies do gênero *Candida* ssp, bem como a sua citotoxicidade *in vitro*.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo desse estudo foi avaliar *in vitro* o perfil fitoquímico, a atividade antifúngica do extrato da casca do caule de *A. occidentale* sobre *Candida* ssp e isolados clínicos, bem como sua toxicidade.

### 2.2 Objetivos específicos

- Identificar o perfil fitoquímico do extrato hidroetanólico de *A. occidentale* por meio da qualificação de compostos ativos;
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Fungicida Mínima (CFM) do extrato da casca do caule de *Anacardium occidentale* sobre *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 2001), *Candida krusei* (ATCC 341), *Candida tropicalis* (ATCC 750) e isolados clínicos de *Candida albicans* (A1 e A2);
- Verificar a atividade hemolítica do extrato do cajueiro em eritrócitos humanos para determinar o potencial citotóxico do mesmo.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Delineamento do estudo

Foi realizado um ensaio laboratorial experimental *in vitro*.

#### 3.2 Local da pesquisa

A triagem fitoquímica foi realizada no Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia do campus I da UEPB. Os ensaios microbiológicos foram realizados no Laboratório de Análises e Diagnóstico do Departamento de Odontologia do campus I da Universidade Estadual da Paraíba. Os ensaios de toxicidade foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do Departamento de Farmácia da UEPB, Campus I.

#### 3.3 Aspectos éticos

A análise dos aspectos éticos do presente estudo, até a conclusão da confecção do mesmo, encontra-se em trâmite junto ao Comitê de Ética da UEPB. Tão logo as questões éticas envolvidas no trabalho sejam aprovadas pelo referido órgão o parecer será anexado ao trabalho.

#### 3.4 Material botânico

As cascas do caule de *Anacardium occidentale* Linn. foram coletadas no período matutino, no mês de setembro de 2019, na região do semiárido nordestino, zona rural do município de Campina Grande, Estado da Paraíba, Brasil (7° 22' 25''S, 35° 59' 32''W).

O espécime de *Anacardium occidentale* Linn. foi depositado e catalogado na Coleção do Herbário Manuel de Arruda Câmara, no Campus I da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB).

O material vegetal foi acondicionado em sacolas de papel e em seguida realizou-se a limpeza do mesmo, eliminando matéria contaminante que viesse a interferir no padrão de qualidade da planta em estudo.

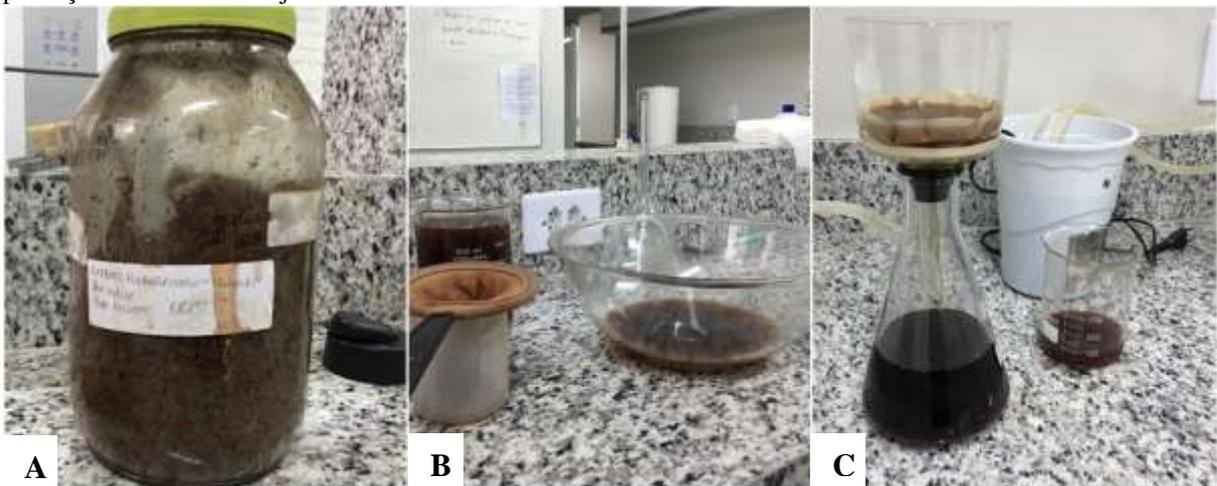
As cascas foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante (FANEM – Modelo 330/ 5) a 40°C, por um período de 14 dias alcançando a estabilização final do peso. Posteriormente foram moídas em moinho de facas (SOLAB – Modelo SL 30), com diâmetro da partícula de 10 mesh, cuja finalidade foi aumentar a superfície de contato e facilitar a

extração dos fitoconstituintes das cascas do caule da planta, quando submetidas à solução extratora.

#### 3.4.1 Obtenção do extrato

Foi preparado extrato hidroetanólico, utilizando como solvente o álcool etílico a 70%, das cascas do caule de *A. occidentale* na proporção 200g planta seca e moída para 1 litro de solvente (Figura 1). O método de extração utilizado foi a maceração exhaustiva. O extrato foi acondicionado em recipientes de vidro âmbar protegidos da luz e conservados sob refrigeração.

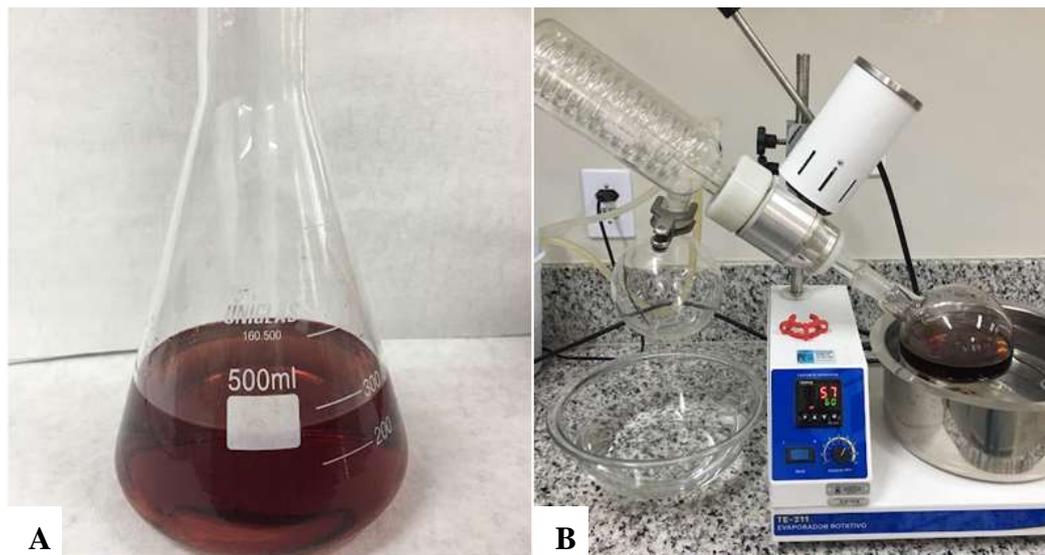
**Figura 1.** Imagens do processo de extração (A), filtragem simples (B) e filtragem á vácuo (C) durante a produção do extrato do cajueiro.



**Fonte:** Próprio autor.

O extrato hidroetanólico foi evaporado sob pressão reduzida em rotaevaporador a 40°C, com rotação de 70 rpm para eliminação do solvente. Posteriormente foi liofilizado (Liofilizador LS 3000 Terroni®) sob temperatura de -20°C a -40°C.

**Figura 2.** Imagens do extrato filtrado (A) e durante o processo de rotaevaporação (B).



**Fonte:** Próprio autor.

### 3.5 Caracterização química (*Screening* fitoquímico)

A realização da investigação fitoquímica do extrato de *Anacardium occidentale* Linn foi baseada no estudo de Costa (2010). Para a investigação da presença de saponinas, foi preparada uma solução mãe, pesando 140 mg do extrato, dissolvido em 28mL de água destilada. Em seguida, 5 mL da solução mãe foi diluídos em 15 mL de água destilada. O tubo foi agitado vigorosamente durante 2 minutos. Após esse tempo, verificou-se se houve ou não presença de espuma permanente, a qual sugere a presença de saponinas no extrato. Já na investigação de polissacarídeos, 5 mL dessa mesma solução mãe foram colocados em contato com Lugol. O aparecimento da coloração azul indica resultado positivo. A identificação de taninos e fenólicos totais necessitou da adição de solução alcoólica de cloreto férrico a 1% em 5 mL da solução mãe. Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado indica reação positiva.

Na identificação de flavonoides, uma solução mãe com 120 mg de extrato dissolvida em 24 mL de metanol foi preparada. Posteriormente, foi acrescentado ácido clorídrico concentrado e raspas de magnésio a 10mL dessa solução. O surgimento de uma coloração rósea-alaranjada indica reação positiva.

Para a verificação da presença de esteroides e triterpenos, foi preparada uma solução mãe contendo 75 mg da fração do extrato dissolvidos em 15 mL de clorofórmio. Em seguida, 10 mL dessa solução foram filtrados sobre carvão ativado. Posteriormente foram adicionados 1 mL de anidrido acético e agitado. Logo após, foi adicionado ácido sulfúrico concentrado e

novamente agitado. O rápido desenvolvimento das cores, que variam do azul evanescente ao verde persistente, indicam resultado positivo.

Por fim, para a investigação da presença de alcaloides, 25 mg do extrato foram dissolvidos em 5 mL de solução de ácido clorídrico 5%. Após filtragem, essa solução foi separada em três tubos de ensaios diferentes. Em cada tubo foram adicionados reagentes de Bouchard, Dragendorff e Mayer. A precipitação ou turvação em pelo menos uma cavidade indica resultado positivo.

### **3.6 Ensaios microbiológicos**

#### **3.6.1 Microrganismos envolvidos e preparo do inóculo**

Foram utilizadas cepas da *American Type Culture Collection* (ATCC): *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida glabrata* (ATCC 2001), *Candida krusei* (ATCC 341), *Candida tropicalis* (ATCC 750), provenientes da Fundação Oswaldo Cruz/RJ. Os isolados clínicos, *Candida albicans* (A1 e A2), estavam estocados em amostras no Laboratório de Análises e Diagnóstico, no Departamento de Odontologia da UEPB.

O preparo do inóculo para os testes de suscetibilidade foi realizado seguindo as recomendações do protocolo M27-A3 para leveduras (CLSI, 2008). O inóculo fúngico foi padronizado em espectrofotômetro (Modelo GT 7220 BioPet Technologies, Monte Alto, Brasil) com comprimento de onda de 530nm e absorvância entre 0,08–0,1, correspondendo à concentração de  $5 \times 10^6$  UFC/mL. Nos poços da microplaca, durante os testes de atividade antimicrobiana, esta concentração cairá pela metade, resultando em  $2,5 \times 10^3$  UFC/mL.

#### **3.6.2 Reativação dos microrganismos**

As cepas de coleção de cultura e de isolados clínicos foram reativados a partir de sua cultura original em meio de cultura Ágar Sabouraud Dextrose (Difco, Detroit, USA) e incubada a 37°C, por 24 h, em atmosfera de aerobiose. Após esse período, três a cinco colônias foram coletadas e suspensas em 10 mL de Caldo Sabouraud Dextrose. Após incubação a 37°C, por 24 h, o conjunto foi centrifugado e as células ressuspensas em 10 mL de solução salina estéril (NaCl 0,9%). Em seguida, a concentração de células foi determinada com auxílio de espectrofotômetro, utilizando-se o comprimento de onda de 530 nm. A densidade celular foi estabelecida na absorvância de 0,1, equivalente a concentração de  $1,0 \times 10^6$  células/mL (CLSI, 2008).

### 3.6.3 Determinação da atividade antifúngica

A atividade antifúngica do extrato hidroetanólico da casca do caule de *Anacardium occidentale* foi determinada segundo a normatização M27-A3 do Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI), por meio da técnica da microdiluição em caldo (CLSI, 2008). A partir desta, foram obtidas a CIM e a CFM das frações do extrato frente às cepas de coleção de cultura e de isolados clínicos.

Microplacas de fundo chato com 96 poços (Cralpast, Cotia, Brasil) foram preparadas inserindo-se 100  $\mu\text{L}$  de Caldo Sabouraud Dextrose em todos os poços. Em seguida, 100  $\mu\text{L}$  do extrato de *A. occidentale* (4000  $\mu\text{g/mL}$ ) foram inseridos na primeira fileira de poços da microplaca. Diluições seriadas (1:2) foram então realizadas por meio da transferência de 100  $\mu\text{L}$  aos poços subsequentes. Em seguida, 100  $\mu\text{L}$  da suspensão dos microrganismos (diluído 1000 $\times$  em Caldo Sabouraud Dextrose). Concentração:  $1 \times 10^3$  UFC/mL) foram inseridos em todos os poços. Desse modo, o extrato foi ensaiado entre o intervalo das concentrações 1000  $\mu\text{g/mL}$  e 7,8  $\mu\text{g/mL}$ . Controle de viabilidade dos microrganismos (ausência de antimicrobiano), bem como controle de esterilidade do meio de cultura (ausência de inoculação de microrganismos nos poços), e do veículo (etanol a 40%) foram realizados para garantir acurácia do método. Controle farmacológico com nistatina e fluconazol (controle positivo) foi realizado nas concentrações que variam de 64 a 0,5  $\mu\text{g/mL}$ .

**Figura 3.** Imagem durante a execução dos ensaios microbiológicos no laboratório.

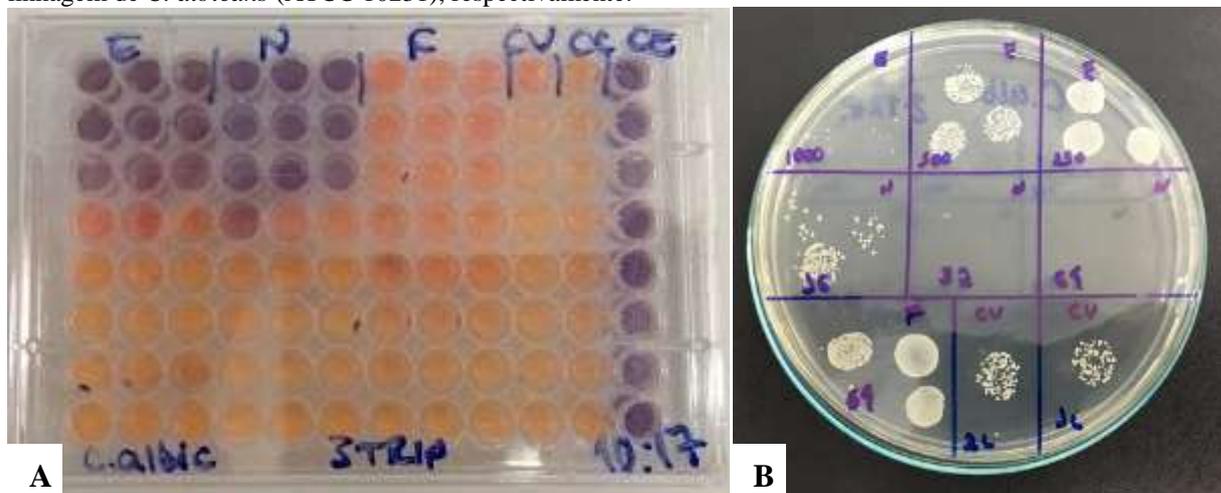


**Fonte:** Próprio autor.

As placas foram então incubadas a 37°C, por 24-48 h, em aerobiose. Após esse período, a CIM foi definida como a menor concentração das substâncias capaz de inibir o crescimento visível dos microrganismos avaliados. A viabilidade dos microrganismos foi determinada pela utilização do corante resazurina (3 mM), o qual foi pipetado (50 µL) em todos os poços após o período de incubação para determinação da CIM (48 h). A metabolização do corante pelos microrganismos viáveis resultou na produção de um pigmento de cor rosa. A CIM foi considerada como a menor concentração que resultou na inibição do crescimento microbiano.

A CFM foi determinada pela semeadura (10 µL) em placas de Ágar Sabouraud Dextrose, de todos os poços correspondentes a concentrações iguais ou superiores a CIM. Após semeadura, as placas foram incubadas a 37°C por 24 h. A CFM foi considerada a menor concentração capaz de inibir o crescimento dos subcultivos. Essas análises foram realizadas em triplicata.

**Figura 4.** Imagens ilustrativas dos experimentos da 3ª triplicata da CIM (A) e da 2ª triplicata da CFM (B) para a linhagem de *C. albicans* (ATCC 10231), respectivamente.



Fonte: Próprio autor.

### 3.7 Citotoxicidade por hemólise

#### 3.7.1 Preparo da suspensão de hemácias

Amostras de sangue humano dos tipos A positivo, B positivo e O positivo foram coletadas em tubo contendo anticoagulante citrato de sódio. Alíquotas de 2 mL de sangue total foram dispensadas em tubo e misturadas em 2 mL de solução fisiológica 0,9 %, os tubos foram centrifugados a 4000 RPM por 3 minutos, sendo o sobrenadante dispensado. Este procedimento foi repetido três vezes. A partir das hemácias já lavadas foi preparada uma suspensão a 5 % de cada tipo sanguíneo, utilizando solução fisiológica 0,9 %.

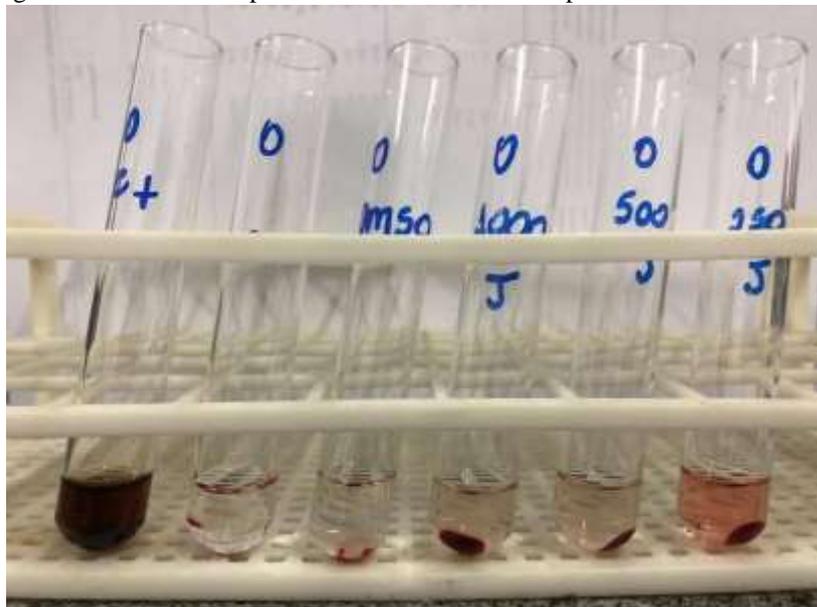
### 3.7.2 Preparo da solução teste de extrato

As soluções testes do extrato do cajueiro utilizadas para o ensaio de citotoxicidade por hemólise, foram preparadas utilizando o extrato liofilizado que foi solubilizado em uma solução de DMSO/Tween80/água destilada (1/0,5/8,5 mL), na concentração de 2000 µg/mL, sendo realizadas diluições sucessivas na proporção de 1:2, chegando em concentrações de 1000 e 500 µg/mL.

### 3.7.3 Ensaio de citotoxicidade por hemólise

Uma alíquota de 1 mL da suspensão de hemácias de cada tipo sanguíneo a 5 % em solução fisiológica 0,9 % foi distribuída em tubos de ensaio e homogeneizadas com 1 mL da solução de extrato de *A. occidentale* para concentrações finais, em tubo de ensaio teste, de 1000, 500 e 250 µg/mL e deixadas em repouso por uma hora. Após este período, as amostras foram centrifugadas a 3000 RPM por 10 minutos, em seguida foi realizada uma leitura da absorbância do sobrenadante em espectrofotômetro (Biosystem BTS-310), no comprimento de onda de 540 nm. Como controle positivo de hemólise foi utilizado o líquido de Turk (resultando em 100 % de hemólise), como controle negativo foi utilizada a solução salina 0,9 % (resultando em 0 % de hemólise) e ainda foi incluído o controle da solução de DMSO/Tween80/água destilada (1/0,5/8,5 mL) onde foi solubilizado o extrato. Como branco foi utilizada a suspensão de hemácias a 5 % e o extrato liofilizado. Os resultados foram expressos em porcentagem de hemólise para cada concentração diante de cada um dos tipos sanguíneos testados (PINTO *et al.*, 2012).

**Figura 5.** Imagem ilustrativa dos experimentos de citotoxicidade por hemólise em eritrócitos humanos.



Fonte: Próprio autor

## 4 RESULTADOS

### 4.1 *Screening* fitoquímico

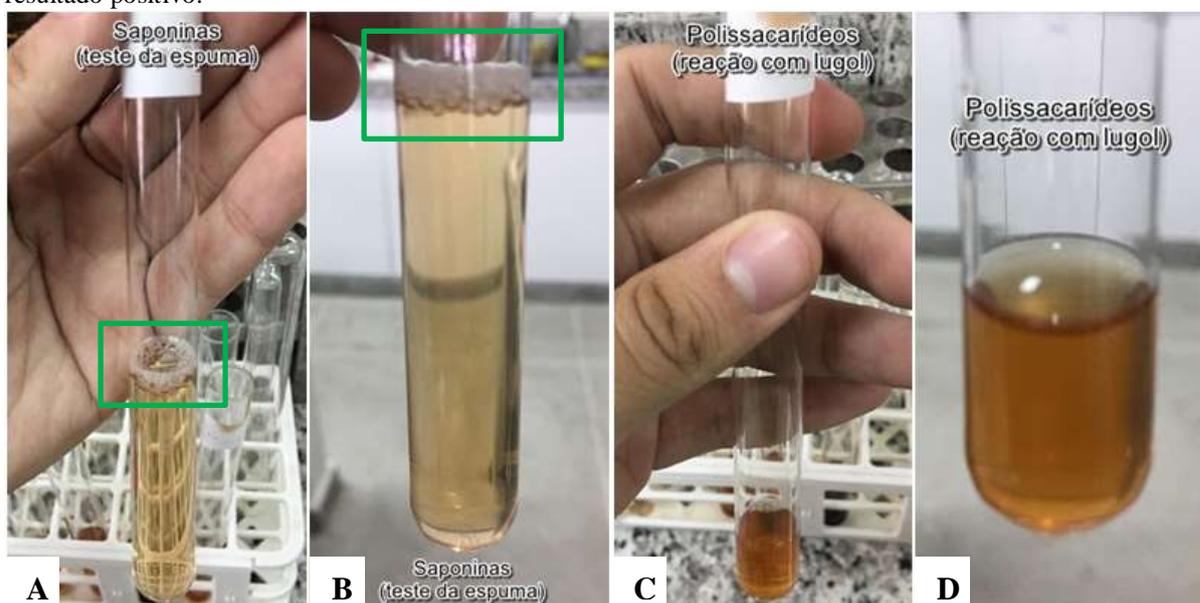
#### 4.1.1 Saponinas

O resultado positivo para a investigação da presença de saponinas no composto se dá caso haja espuma persistente após 2 minutos contínuos de agitação vigorosa da solução mãe, como descrito nos Materiais e Métodos. Neste teste, foi possível observar a presença dessa formação na superfície do líquido no tubo, evidenciando resultado positivo.

#### 4.1.2 Polissacarídeos

Para caracterizar a presença de Lugol no extrato seria necessário que, após o contato da substância com a solução mãe, houvesse alteração da coloração do composto para um tom azulado, o que não ocorreu, caracterizando resultado negativo, como observado na Figura 6.

**Figura 6.** Imagens dos testes de identificação da presença de saponinas (A e B) e polissacarídeos (C e D), respectivamente, no extrato, com destaque para a presença da espuma persistente na primeira amostra, indicando resultado positivo.



Fonte: Próprio autor.

#### 4.1.3 Taninos e fenólicos totais

A mudança consistente de coloração e formação de precipitado na solução mãe após a adição de solução alcoólica de cloreto de ferro a 1% indicou resultado fortemente positivo para a presença de taninos e fenólicos totais. O líquido com o extrato passou de uma coloração acastanhada para um tom de azul escuro altamente concentrado, como pode ser observado na Figura 7.

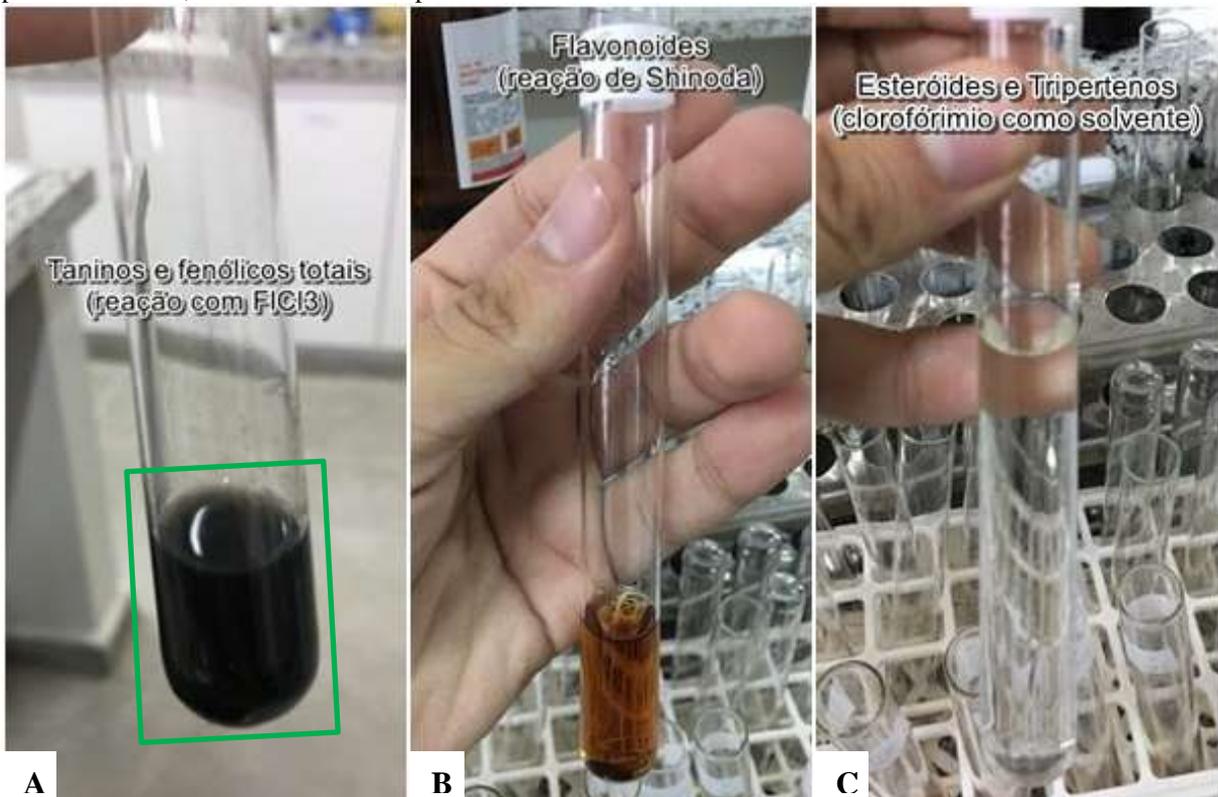
#### 4.1.4 Flavonoides

Para confirmar a presença de flavonoides no extrato seria necessário que, após preparada uma mistura com a solução mãe acrescida de metanol, ácido clorídrico concentrado e raspas de magnésio, uma coloração róseo-alaranjada surgisse, o que não ocorreu, caracterizando resultado negativo, que está demonstrado na Figura 7.

#### 4.1.5 Esteroides e tripertenos

Na investigação da presença de esteroides e tripertenos seria necessário que a solução mãe dissolvida em clorofórmio, filtrada em carvão ativado e acrescida de anidrido acético resultasse em um líquido de uma coloração azul ou verde, o que não aconteceu, confirmando o resultado negativo, evidente na Figura 7.

**Figura 7.** Imagens dos testes de identificação da presença de taninos e fenólicos totais (A), flavonoides (B) e esteroides e tripertenos (C), respectivamente, com destaque para a presença da coloração fortemente azulada na primeira amostra, indicando resultado positivo.

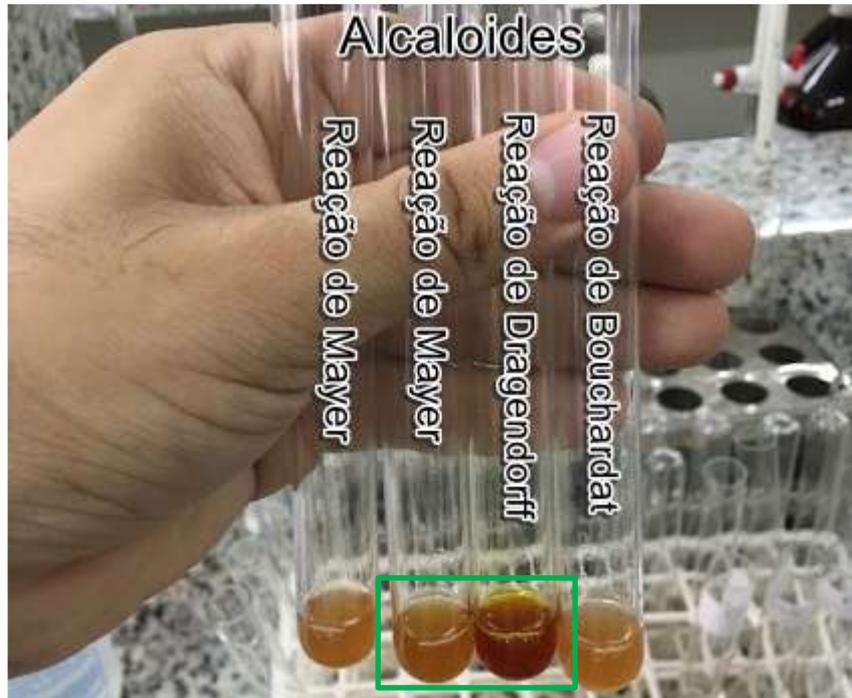


Fonte: Próprio autor.

#### 4.1.6 Alcaloides

A dissolução do extrato em ácido clorídrico a 5% com posterior filtragem e adição separadamente de três reagentes específicos (Bouchard, Dragendorff e Mayer) deu origem a uma precipitação e turvação nos tubos com as amostras, apontando resultado positivo.

**Figura 8.** Imagem dos testes de identificação da presença de alcaloides, com destaque para a presença da precipitação e da turvação com os reagentes de Mayer e Dragendorff, respectivamente, evidenciando resultado positivo.



Fonte: Próprio autor.

#### 4.1.7 Qualificação fitoquímica

Os resultados das análises do *screening* fitoquímico do extrato de cajueiro estão dispostos na Tabela 1, cuja qualificação dos compostos está identificada de acordo com a seguinte legenda: (+++) fortemente positivo; (++) moderadamente positivo; (+) positivo; (-) negativo.

**Tabela 1.** Comparativo dos resultados qualitativos da presença de compostos no extrato de *A. occidentale*.

	EXPERIMENTO	EVIDÊNCIA	QUALIFICAÇÃO
<b>Saponinas</b>	5 mL da solução mãe são diluídos em 15 mL de água destilada. O tubo é agitado vigorosamente durante 2 minutos.	Surgimento de uma espuma persistente.	+ +
<b>Polissacarídeos</b>	5 mL da solução mãe são colocados em contato com Lugol.	Aparecimento da coloração azul.	-
<b>Taninos e Fenólicos Totais</b>	Adição de solução alcoólica de cloreto férrico a 1% em 5 mL da solução mãe.	Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado.	+ + +
<b>Flavonoides</b>	A solução mãe é dissolvida em 24 mL de metanol. Acrescenta-se ácido clorídrico concentrado e raspas de magnésio a 10mL dessa solução.	Surgimento de uma coloração rósea-alaranjada.	-
<b>Esteroides e Triptenos</b>	Dissolve-se a solução mãe em 15 mL de clorofórmio. Em seguida, 10 mL dessa solução são filtrados sobre carvão ativado. Posteriormente adiciona-se 1 mL de anidrido acético e agita-se. Logo após, adiciona-se ácido sulfúrico concentrado e agita-se.	Rápido desenvolvimento das cores, que variam do azul evanescente ao verde persistente.	-
<b>Alcaloides</b>	A solução mãe é dissolvida em 5 mL de solução de ácido clorídrico 5%. Após filtração, a solução é submetida separadamente a três reagentes: Bouchard, Dragendorff e Mayer.	A precipitação ou turvação em pelo menos um reagente.	+ + +

Fonte: Próprio autor.

#### 4.2 Determinação da atividade antifúngica

A atividade antifúngica de *A. occidentale* foi determinada através das análises da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Fungicida Mínima (CFM) frente cada cepa analisada no estudo, bem como a partir da caracterização da atividade antifúngica com base na razão CFM/CIM, de acordo com Siddiqui *et al.*, (2013).

**Tabela 2.** Distribuição da CIM e da CFM do extrato de *A. occidentale* e controles positivos de acordo com as espécies de *Candida*. Os valores de CIM e CFM foram expressões em µg/mL.

Leveduras	Extrato			Nistatina			Fluconazol		
	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM
<i>C. albicans</i> (A1)	250	>1000	>4	64	>64	>1	>64	>64	>1
<i>C. albicans</i> (A2)	500	>1000	>2	>64	>64	>1	>64	>64	>1
<i>C. albicans</i> (ATCC 10231)	250	>1000	>4	16	32	2	>64	>64	>1
<i>C. glabrata</i> (ATCC 90030)	250	>1000	>4	16	64	4	>64	>64	>1
<i>C. krusei</i> (ATCC 34135)	500	>1000	>2	32	>64	>2	>64	>64	>1
<i>C. tropicalis</i> (ATCC 750)	250	>1000	>4	32	64	2	>64	>64	>1

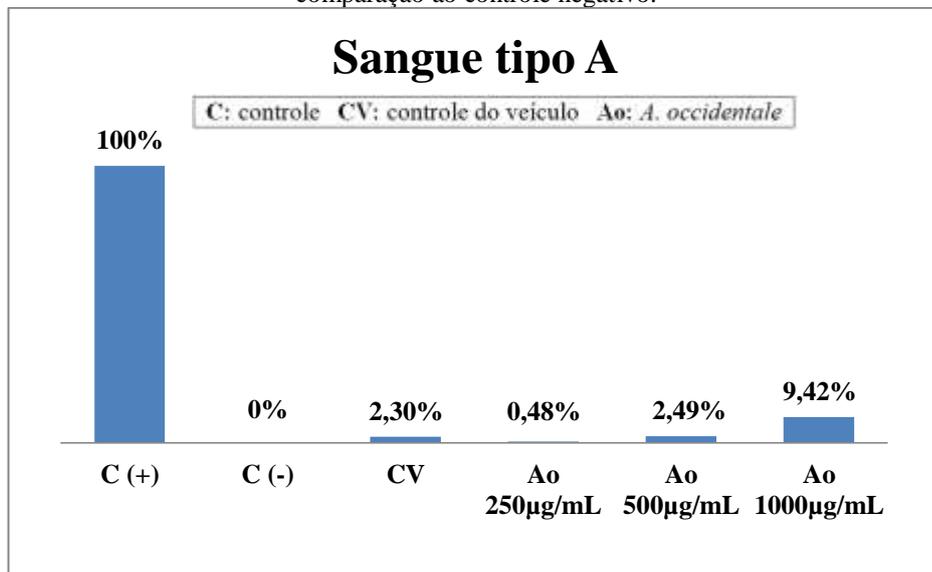
Fonte: Próprio autor.

Neste estudo pode-se observar que o extrato de cajueiro apresentou potencial atividade de inibição sobre o crescimento de todas as espécies do gênero *Candida*, apresentando valores de CIM entre 250 µg/mL e 500 µg/mL e CFM com valores >1000 µg/mL, com atividade fungistática sobre as espécies estudadas.

### 4.3 Ensaios de citotoxicidade

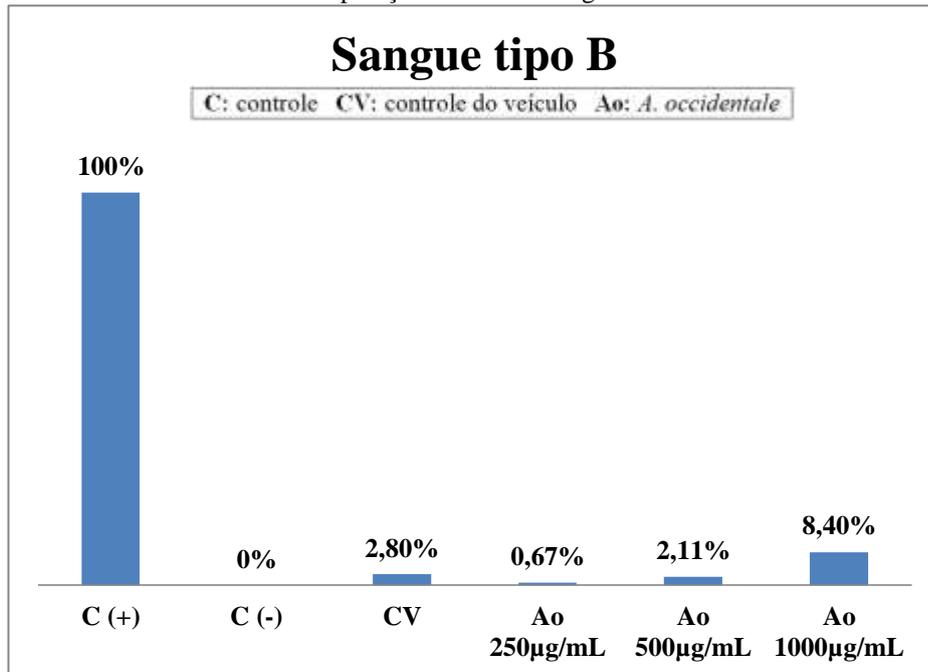
Uma vez que, foi demonstrada atividade antimicrobiana e presença de compostos ativos para o extrato avaliado, tornou-se importante conhecer a citotoxicidade por meio de hemólise sobre eritrócitos humanos que o mesmo poderia apresentar. Os resultados dos testes estão dispostos nos Gráficos 1, 2 e 3, em comparação ao controle negativo.

**Gráfico 1.** Efeitos hemolíticos do extrato de *A. occidentale* em eritrócitos humanos do tipo sanguíneos A, em comparação ao controle negativo.



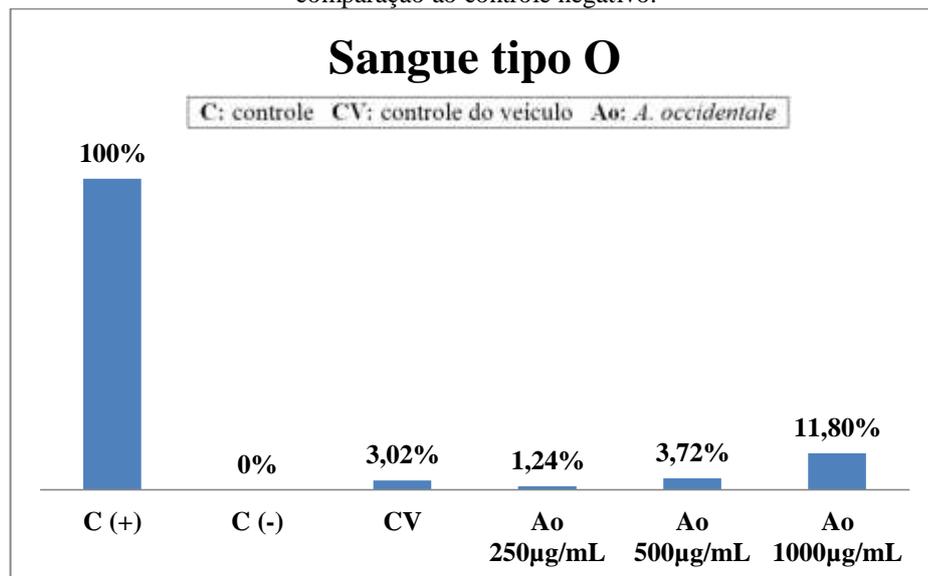
Fonte: Próprio autor.

**Gráfico 2.** Efeitos hemolíticos do extrato de *A. occidentale* em eritrócitos humanos do tipo sanguíneos B, em comparação ao controle negativo.



. Fonte: Próprio autor.

**Gráfico 3.** Efeitos hemolíticos do extrato de *A. occidentale* em eritrócitos humanos do tipo sanguíneos O, em comparação ao controle negativo.



Fonte: Próprio autor.

## 5 DISCUSSÃO

Sabe-se que os microrganismos tolerantes aos fármacos antimicrobianos convencionais estão se disseminando mais rapidamente que a produção e a introdução no mercado de novos compostos capazes de combatê-los (LING *et al.*, 2015). Em face disso, é de extrema importância que sejam elucidados os mecanismos pelos quais as leveduras desenvolvem resistência aos tratamentos disponíveis atualmente, para que novas estratégias possam ser elaboradas (QUINTANA *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2020).

Diferentes tipos de metabólitos secundários como taninos, compostos fenólicos e alcaloides estão presentes na composição fitoquímica de extratos de plantas medicinais e apresentam atividades antimicrobianas respaldadas pela literatura (RIBEIRO *et al.*, 2020). Particularmente, a triagem fitoquímica das partes que constituem o cajueiro demonstra que a espécie possui diversos compostos bioativos de interesse, que podem ser utilizados no tratamento de infecções por bactérias e fungos, além de combater os radicais livres (BAPTISTA *et al.*, 2018; SANTOS *et al.*, 2018). O caule, em específico, contém saponinas, catequinas, esteroides, flavononas e taninos pirogálicos (SANTOS *et al.*, 2018).

Diante disso, considerando-se que o resultado da triagem fitoquímica do presente trabalho evidenciou que o extrato de *Anacardium occidentale* foi fortemente positivo para a presença de alcaloides, taninos e fenólicos totais, além da presença moderada de saponinas, é possível justificar os efeitos antimicrobianos e antifúngicos do cajueiro em razão das propriedades biológicas atribuídas a esses metabólitos.

Os achados do presente estudo são semelhantes aos descritos por Santos (2011), que também identificou a presença de compostos fenólicos e alcaloides em sua análise. A não identificação de determinados compostos tradicionalmente encontrados em plantas medicinais pode ter relação com a região do vegetal utilizada na elaboração do produto, uma vez que, de acordo com Silva (2012), o extrato do caule de *A. occidentale* foi o que apresentou o menor percentual de bioativos identificados em comparação às formulações provenientes das folhas e das flores do cajueiro.

As atividades antimicrobianas e antioxidantes dos extratos de *A. occidentale* podem ser atribuídas à presença de taninos nas suas partes constituintes (FREIRE *et al.*, 2017). Os autores sugerem que produtos originados a partir dessa matéria-prima podem ser uma alternativa promissora em preparações farmacêuticas e cosméticas em substituição aos antioxidantes sintéticos tóxicos. Ainda nessa perspectiva, o estudo de Chaves *et al.*, (2010)

obteve dados consoantes aos resultados do presente trabalho, no qual compostos fenólicos também foram encontrados em grandes quantidades no extrato etanólico das cascas do caule do cajueiro.

Os extratos obtidos a partir de *Anacardium occidentale* se destacam pela comprovada atividade antifúngica (SILVA *et al.*, 2020). Tal efeito é relatado nas várias partes constituintes do cajueiro, como folhas (SHOBHA *et al.*, 2018), flores e caule (SILVA *et al.*, 2016), podendo a planta ser uma importante e promissora fonte de compostos terapêuticos alternativos para o tratamento de infecções.

Com base nos valores de CIM, o extrato de *A. occidentale* demonstrou potencial antimicrobiano ativo (CIM < 1000 µg/mL) (Holetz *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2008) em todas as cepas de *Candida* spp testadas. Também de acordo com a mesma literatura, observou-se atividade moderada (CIM: 100-500 µg/mL) (Holetz *et al.*, 2002; Morales *et al.*, 2008) em todas as linhagens. A razão CFM/CIM indicou atividade fungistática do extrato do cajueiro (MFC/MIC ≥ 4) (Siddiqui *et al.*, 2013) em todas as cepas de *Candida* ssp.

Nduche, Nkaa e Ibem (2018) verificaram que os graus de inibição de crescimento de microrganismos dependem da concentração dos extratos vegetais estudados. No presente trabalho, o extrato da casca do caule de *Anacardium occidentale* apresentou atividade inibitória contra todas as cepas utilizadas nos testes (CIM).

As linhagens das espécies estudadas *C. albicans* (ATCC 10231), *C. glabrata* (ATCC 90030), e *C. tropicalis* (ATCC 750), apresentaram valores CIM semelhantes (250 µg/mL). Vale ressaltar que, o isolado clínico *C. albicans* (A1), demonstrou a mesma sensibilidade à ação do extrato em relação à cepa de *C. albicans* (ATCC 10231). Esse dado é de grande importância, uma vez que, as cepas clínicas estão expostas aos antifúngicos convencionais desenvolvendo resistência regularmente. Neste estudo pode-se observar o potencial antifúngico do extrato sobre o crescimento desses microrganismos. As cepas de *C. krusei* (ATCC 34135) e *C. albicans* (A2) apresentaram maior resistência à ação do extrato (500 µg/mL) quando comparado as demais linhagens.

Os resultados deste estudo corroboram com a literatura já existente acerca do potencial antifúngico das partes de *Anacardium occidentale* L. sobre *Candida* spp, destacando-se a atividade inibitória sobre o crescimento de *Candida albicans* (SILVA *et al.*, 2016; SHOBHA *et al.* 2018; ALIA *et al.*, 2016).

Jung *et al.*, (2015) estudaram a fungemia de *Candida* em pacientes com câncer na cidade de Houston, no Texas, EUA. Foi constatado um acentuado aumento de infecções incomuns causadas por esses microrganismos na corrente sanguínea de pacientes com neoplasias malignas. Sousa *et al.*, (2016) isolaram espécies de *Candida* em pacientes com malignidades orogástricas. Foi possível encontrá-las em 85% dos indivíduos afetados, sendo *Candida albicans* a espécie mais prevalente.

Diante do exposto, uma das grandes contribuições desta pesquisa diz respeito à atividade inibitória que o extrato demonstrou sobre *C. albicans* (ATCC 10230), uma vez que a espécie compreende atualmente a levedura mais frequentemente encontrada nas infecções fúngicas em seres humanos. (ROCHA *et al.*, 2021). Esse fato, associado aos mecanismos multifatoriais de resistência desenvolvidos por essa espécie, gerou um grave problema de saúde pública (LÓPEZ-ÁVILA *et al.*, 2016; VIEIRA; SANTOS, 2017), com altos níveis de mortalidade, sobretudo em populações imunocomprometidas (VIEIRA; NASCIMENTO, 2017), chamando a atenção da comunidade científica para a urgência no estabelecimento de diferentes manejos clínico-terapêuticos.

A sensibilidade de *C. glabrata* e *C. krusei* ao extrato do cajueiro também possui relevância particular no cenário epidemiológico global, uma vez que representam, respectivamente, a segunda e a terceira infecções mais comuns pelo gênero *Candida* no mundo (ROCHA *et al.*, 2021). Somado a isso, a literatura demonstra que as espécies vêm desenvolvendo tolerância ascendente ao Fluconazol, o que prejudica as terapias das infecções por essas linhagens utilizando o fármaco padrão (PARRA; CÁRDENAS, 2016; JAMIU *et al.*, 2021).

Com relação às Concentrações Fungicidas Mínimas (CFM), nenhuma cepa demonstrou-se sensível ao extrato nas concentrações analisadas, com todas as espécies apresentando CFM > 1000. Diante desses dados, embora outras análises sejam necessárias, é possível afirmar que o extrato hidroetanólico da casca do caule do cajueiro é uma formulação estritamente fungistática.

Uma vez que, foi demonstrada atividade antimicrobiana e presença de compostos ativos para o extrato avaliado, tornou-se importante conhecer a citotoxicidade por meio de hemólise sobre eritrócitos humanos que o mesmo poderia apresentar. O teste de atividade hemolítica com eritrócitos aqui utilizado, bem como outros ensaios de citotoxicidade, tem sido amplamente divulgados na literatura para investigar o potencial citotóxico de extratos de plantas medicinais (FIGUEIRÊDO JÚNIOR *et al.*, 2019).

Os resultados desses testes sugerem que nas concentrações testadas de hemólises, o extrato de *A. occidentale* apresentou baixa atividade hemolítica (< 40%) em comparação com o controle positivo para todas as concentrações testadas de todos os tipos sanguíneos (Rangel *et al.*, 1997). Assim, a citotoxicidade do extrato do cajueiro parece ser insignificante, o que é desejável para uso clínico futuro. Os resultados obtidos corroboram com o trabalho de Costa *et al.*, (2021), que já havia relatado a baixa toxicidade em células humanas que o extrato do cajueiro produz. Os achados toxicológicos obtidos neste estudo confirmaram parcialmente que o extrato é biologicamente compatível com eritrócitos humanos. Contudo, ainda são necessárias outras avaliações toxicológicas mais completas em modelos *in vivo*.

É válido ressaltar que a hemólise ligeiramente superior causada pelo extrato em concentrações mais altas pode ser resultado da presença de compostos fitoquímicos como as saponinas, que são conhecidas por apresentarem propriedades hemolisantes (Coleman *et al.*, 2010). Por fim, tomados em conjunto, os resultados deste estudo apoiam a ótica de que mais pesquisas devem se concentrar em outros ensaios toxicológicos, tais como a triagem toxicológica aguda e crônica e a atividade mutagênica do extrato da casca do caule de *A. occidentale*, utilizando outros modelos relevantes de testes.

## 6 CONCLUSÃO

O extrato da casca do caule do cajueiro possui em sua composição alcaloides, taninos e compostos fenólicos em abundância. Os testes também evidenciaram a presença moderada de saponinas na solução extrativa. Esses compostos são relatados na literatura recente como metabólitos bioativos de interesse clínico. Desse modo, pode-se afirmar que as atividades terapêuticas atribuídas ao vegetal estão diretamente relacionadas à presença dessas substâncias.

Nos ensaios microbiológicos, o extrato demonstrou possuir atividade inibitória frente ao crescimento de todas as cepas de *Candida* sp utilizadas nesse estudo, ficando evidente o potencial antifúngico do produto. Esses dados podem ser importantes para o desenvolvimento de produtos alternativos para o combate de infecções fúngicas por leveduras resistentes aos medicamentos antimicrobianos tradicionalmente utilizados.

Outro importante achado dessa pesquisa faz referência ao baixo poder de hemólise do extrato frente aos eritrócitos humanos, ficando evidente a baixa citotoxicidade da solução nas células sanguíneas. Sugere-se, portanto, que o extrato da casca do caule de *A. occidentale* é seguro para uma possível utilização clínica futura, embora estudos *in vivo* mais amplos sejam necessários.

Fica evidente, portanto, que o extrato da casca do caule de *A. occidentale* possui grande destaque na perspectiva do desenvolvimento sustentável de novos produtos para a terapia complementar de infecções fúngicas em seres humanos, podendo ser uma fonte segura eficaz de compostos de interesse clínico.

## REFERÊNCIAS

- ALIA, A. H. N. A.; SHUKRI, MA Mohd; RAZALI, M. Antimicrobial potency of essential oil from cashew (*Anacardium occidentale* Linn.) clones. **J. Trop. Agric**, v. 44, p. 73-80, 2016. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Nor\\_Ayshah\\_Alia\\_Ali\\_Hassan/publication/335134826\\_Antimicrobial\\_potency\\_of\\_essential\\_oil\\_from\\_cashew\\_Anacardium\\_occidentale\\_Linn\\_clone\\_s/links/5d5218874585153e595066bb/Antimicrobial-potency-of-essential-oil-from-cashew-Anacardium-occidentale-Linn-clones.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Nor_Ayshah_Alia_Ali_Hassan/publication/335134826_Antimicrobial_potency_of_essential_oil_from_cashew_Anacardium_occidentale_Linn_clone_s/links/5d5218874585153e595066bb/Antimicrobial-potency-of-essential-oil-from-cashew-Anacardium-occidentale-Linn-clones.pdf). Acesso em: 23 Mai. 2022.
- ANDRADE JÚNIOR, Francisco Patrício de *et al.* *Anacardium occidentale* (CAJUEIRO) E SEU POTENCIAL ANTIMICROBIANO: UMA REVISÃO. *In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE DIVERSIDADE DO SEMIÁRIDO (CONIDIS)*, 2016, Campina Grande, PB. [S. l.: s. n.], 2016. Disponível em: [file:///C:/Users/josin/Desktop/FITOTERAPIA/CAJU/Anacardium%20occidentale%20\(CAJUEIRO\)%20E%20SEU%20POTENCIAL%20REVIS%C3%83O%20recente.pdf](file:///C:/Users/josin/Desktop/FITOTERAPIA/CAJU/Anacardium%20occidentale%20(CAJUEIRO)%20E%20SEU%20POTENCIAL%20REVIS%C3%83O%20recente.pdf). Acesso em: 18 abr. 2022.
- BAPTISTA, Anderson et al. Antioxidant and antimicrobial activities of crude extracts and fractions of cashew (*Anacardium occidentale* L.), Cajui (*Anacardium microcarpum*), and pequi (*Caryocar brasiliense* C.): a systematic review. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2018, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5932493/>. Acesso em 04 Mai. 2022.
- BRASIL; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **CAJU: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2015. Disponível em: <http://mais500p500r.sct.embrapa.br/view/pdfs/90000031-ebook-pdf.pdf>. Acesso em: 11 Mai. 2022.
- BRASIL; MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). Resolução da Diretoria Colegiada-RDC nº 26, de 13 de maio de 2014. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos eo registro ea notificação de produtos tradicionais fitoterápicos, junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, 2014. Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026\\_13\\_05\\_2014.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2014/rdc0026_13_05_2014.pdf). Acesso em: 17 Abr. 2022.
- COLEMAN JJ, Okoli I, Tegos G, Holson EB, Wagner FF, Hamblin MR, Mylonakis E. 2010. Characterization of plant - derived saponin natural products against *Candida albicans*. **ACS Chem Biol** 5: 321 - 332. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/cb900243b>. Acesso em 28 Abr. 2022.
- CORRÊA, Rafael de Oliveira. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de extratos vegetais frente aos principais microrganismos causadores da candidíase. 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufjf.br:8080/xmlui/handle/ufjf/5934>. Acesso em 28 Abr. 2022.
- CHAVES, Mariana H. et al. Total phenolics, antioxidant activity and chemical constituents from extracts of *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 1, p. 106-112, 2010. Disponível em:

[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102695X2010000100021&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102695X2010000100021&script=sci_arttext&tlng=pt). Acesso em 04 Mai. 2022.

COSTA, Adrielle Rodrigues et al. Phytochemical profile and anti-Candida and cytotoxic potential of *Anacardium occidentale* L.(cashew tree). **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 37, p. 102192, 2021. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818121002887?casa\\_token=ksboRVYSgZgAAAAA:bzihkIy\\_1hbLNxGZMnMZtz32R95yADPyVt78DZnVbCOHsd9AOEmH zJ9c9szE6ynQYXpK2XMocifA](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818121002887?casa_token=ksboRVYSgZgAAAAA:bzihkIy_1hbLNxGZMnMZtz32R95yADPyVt78DZnVbCOHsd9AOEmH zJ9c9szE6ynQYXpK2XMocifA). Acesso em 04 Mai. 2022.

COSTA, E.M.M.B. et al. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de extratos de plantas contra *Enterococcus faecalis*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v.46, n.3, p.175-180, 2010. Disponível em: <[https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S167624442010000300004&script=sci\\_arttext&tlng=pt](https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S167624442010000300004&script=sci_arttext&tlng=pt)>. Acesso em: 23 Abr. 2022.

DANTAS, Alessandra da Silva et al. Cell biology of *Candida albicans*–host interactions. **Current opinion in microbiology**, v. 34, p. 111-118, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527416301230>. Acesso em: 25 Abr. 2022.

FIGUEIRÊDO JÚNIOR, Ernani Canuto et al. Use of erythrocytes in cytotoxicity and toxicity assays of medicinal plant extracts: analysis of their application and bibliometric study. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas medicinales y aromáticas**, v. 18, n. 4, 2019. Disponível em: <https://blacpma.ms-editions.cl/index.php/blacpma/article/view/94/87>. Acesso em 11 Mai. 2022.

FREIRE, JULIANA CARIRY PALHANO et al. Estudo Etnobotânico do Cajueiro (*Anacardium occidentale* L.): uma Árvore Nativa do Brasil. **Uningá Review**, v. 29, n. 3, 2017. Disponível em: <https://revista.uninga.br/uningareviews/article/view/1984/1579>. Acesso em 11 Mai. 2022.

GOMES, Carlos Eduardo Bezerra et al. Clinical effect of a mouthwash containing *Anacardium occidentale* Linn. on plaque and gingivitis control: A randomized controlled trial. **Indian Journal of Dental Research**, v. 27, n. 4, p. 364, 2016. Disponível em: <http://www.ijdr.in/article.asp?issn=09709290;year=2016;volume=27;issue=4;spage=364;epage=369;aulast=Gomes>. Acesso em 11 Mai. 2022.

HASENCLEVER, Lia et al. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 2559-2569, 2017. Disponível em: <<https://www.scielo.org/pdf/csc/2017.v22n8/2559-2569/pt>>. Acesso em: 18 Abr. 2022.

HOLETZ, Fabíola Barbiéri et al. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 1027-1031, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/SMRK4jhMw84QBZLX6knbbSx/abstract/?lang=en>. Acesso em: 18 Abr. 2022.

- JAMIU, A. T. et al. Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. **Medical Mycology**, v. 59, n. 1, p. 14-30, 2021. Disponível em: <https://academic.oup.com/mmy/article-abstract/59/1/14/5836561?login=false/>. Acesso em: 27 Abr. 2022.
- JUNG, Dong Sik et al. Uncommon *Candida* species fungemia among cancer patients, Houston, Texas, USA. **Emerging infectious diseases**, v. 21, n. 11, p. 1942, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4625381/>. Acesso em: 27 Abr. 2022.
- LEE, Yunjin et al. Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. **Chemical reviews**, v. 121, n. 6, p. 3390-3411, 2020. Disponível em: [https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.chemrev.0c00199?casa\\_token=QeVPhNuUU\\_gAAA%3ADkjFjGxlmunvtiA4qundoSnWxcxK8cjSVtJIAHxul5W4mmbe3QEIVAhAVN-V6gQQVEoi0ABjczxDLY6IEF8](https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.chemrev.0c00199?casa_token=QeVPhNuUU_gAAA%3ADkjFjGxlmunvtiA4qundoSnWxcxK8cjSVtJIAHxul5W4mmbe3QEIVAhAVN-V6gQQVEoi0ABjczxDLY6IEF8). Acesso em: 21 Abr. 2022.
- LEITE, Aracelli de Sousa et al. Pharmacological properties of cashew (*Anacardium occidentale*). **African Journal of Biotechnology**, v. 15, n. 35, p. 1855-1863, 2016. Disponível em: <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/144433>. Acesso em: 21 Abr. 2022.
- LING, L. L.; SCHNEIDER, T.; PEOPLES, A. J.; SPOERING, A. L.; ENGELS I.; CONLON, B. P.; MUELLER, A.; SCHÄBERLE, T. F.; HUGHES, D. E.; et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. **Nature**. v. 517, p. 455- 459. 2015. Disponível em: <http://bjns.com.br/index.php/BJNS/article/view/47/24>. Acesso em: 18 Abr. 2022.
- LÓPEZ-ÁVILA, Karina et al. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. **Revista biomédica**, v. 27, n. 3, p. 127-136, 2016. Disponível em: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2016/bio163e.pdf>. Acesso em: 21 Abr. 2022.
- MARQUES, Paola Alvares et al. Prescrição farmacêutica de medicamentos fitoterápicos. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, v. 2, n. 1, p. 15-15, 2019. Disponível em: <http://bjns.com.br/index.php/BJNS/article/view/47/24>. Acesso em: 18 Abr. 2022.
- MESQUITA, Maria Otammires Mota de et al. Potencial antimicrobiano de extratos e moléculas isolados de plantas da Caatinga: uma revisão. 2017. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/24857>. Acesso em: 20 Abr. 2022.
- MORALES G, Paredes A, Sierra P, Loyola LA. 2008. Antimicrobial activity of three *Baccharis* species used in the traditional medicine of northern Chile. **Molecules** 13: 790 - 794. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules13040790>. Acesso em 02 Mai. 2022.
- NDUCHE, M. U.; NKA, F. A.; IBEM, N. C. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activities of *Cola hispida* (Brenan), *Cola nitida* (Vent) Schott & Endl., *Anacardium occidentale* (Linn) and *Mangifera indica* (Linn). **Journal of Science and Sustainable Technology (JSST)**, v. 1, n. 2, p. 290-307, 2018. Disponível em: <https://ojs.mouau.edu.ng/index.php/jsst/article/view/143>. Acesso em: 25 Abr. 2022.
- NÓBREGA, Andressa Lacerda et al. A importância da orientação dos profissionais das equipes de saúde da família a cerca do uso da fitoterapia. **Revista Brasileira de Educação e**

**Saúde**, v. 7, n. 1, p. 43-48, 2017. Disponível em:  
<https://editoraverde.org/gvaa.com.br/revista/index.php/REBES/article/view/3768/4248>.  
 Acesso em: 18 Abr. 2022.

PARRA, Leidy Yurani Cárdenas; CÁRDENAS, Jorge Enrique Pérez. Mecanismos de resistencia a fluconazol expresados por *Candida glabrata*: una situación para considerar en la terapéutica. **Investigación en Enfermería: Imagen y Desarrollo**, v. 22, 2020. Disponível em: [https://revistas.javeriana.edu.co/files-articulos/IE/22%20\(2020\)/145263339011/](https://revistas.javeriana.edu.co/files-articulos/IE/22%20(2020)/145263339011/). Acesso em: 25 Abr. 2022.

PINTO, D. S., Duarte, F. M., Costa, J. I. V., Almeida Filho, G. G., Alves, H. S., Chaves, M. C.O., & Pessoa, H. L. F. (2012). Antibacterial and hemolytic activities from *Piper montealegreanum* Yuncker (Piperaceae). **Anti-Infective Agents**, 10(1), 1-5. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/2211362611201010001>. Acesso em: 25 Abr. 2022.

QUINTANA, Sandra Cruz et al. Genoma de *Candida albicans* y resistencia a las drogas. **Revista Salud Uninorte**, v. 33, n. 3, p. 438-450, 2017. Disponível em: <https://www.redalyc.org/journal/817/81753881018/movil/>. Acesso em: 18 Abr. 2022.

RANGEL M, Malpezzi EL, Susini SM, de Freitas JC. 1997. Hemolytic activity in extracts of the diatom *Nitzschia*. **Toxicon** 35: 305 - 309. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(96\)00148-1](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(96)00148-1). Acesso em: 18 Abr. 2022.

REIS, Luis FC DOS et al. Chemical characterization and evaluation of antibacterial, antifungal, antimycobacterial, and cytotoxic activities of *Talinum paniculatum*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 5, p. 397-405, 2015. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-46652015000500397](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652015000500397). Acesso em: 18 Abr. 2022.

RIBEIRO, Adyelle Dantas et al. Potencial antimicrobiano do *Anacardium occidentale* Lin. contra patógenos orais. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e883986459-e883986459, 2020. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/6459/5974>. Acesso em: 25 Jun. 2022.

ROCHA, Da Wilma Raianny Vieira et al. Gênero *Candida*-Fatores de virulência, Epidemiologia, Candidíase e Mecanismos de resistência. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e43910414283-e43910414283, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/14283/12866>. Acesso em: 25 Jun. 2022.

SANTOS, José Aparecido Silva et al. Estudo do potencial antioxidante da *Anacardium occidentale* L. e determinação de seus compostos fenólicos. **Diversitas Journal**, v. 3, n. 2, p. 455-474, 2018. Disponível em: [http://periodicos.ifal.edu.br/diversitas\\_journal/article/view/637](http://periodicos.ifal.edu.br/diversitas_journal/article/view/637). Acesso em 01 Mai. 2022.

SANTOS, Francianne Oliveira et al. Atividades biológicas de *Anacardium occidentale* (Linn). 2011. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/bitstream/handle/riufcg/3525/FRANCIANNE%20OLIVEIRA%20SANTOSDISSERTA%20c3%87%c3%83O%20%28PPGZ%29%202011.pdf?sequence=3&isAllowed=y>. Acesso em 04 Mai. 2022.

SHOBHA, KL et al. Antimicrobial activity of aqueous and ethanolic leaf extracts of *Anacardium occidentale*. **Asian J Pharm Clin Res**, v. 11, n. 12, p. 474-476, 2018. Disponível em: <https://eprints.manipal.edu/152634/>. Acesso em: 25 Mai. 2022.

SIDDIQUI ZN, Farooq F, Musthafa TNM, Ahmad A, Khan AU. 2013. Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of novel halopyrazole derivatives. **J Saudi Chem Soc**17: 237 - 243. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2011.03.016>. Acesso em 04 Mai. 2022.

SILVA, Flávia dos Santos et al. Antifungal activity of selected plant extracts based on an ethnodirected study. **Acta Botanica Brasilica**, v. 34, p. 442-448, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abb/a/ryByPRGNyV9X9xcSbYXgQ5M/?lang=en>. Acesso em: 27 Abr. 2022.

SILVA, Rubenice Amaral da et al. Antimicrobial and antioxidant activity of *Anacardium occidentale* L. flowers in comparison to bark and leaves extracts. **Journal of Biosciences and Medicines**, v. 4, n. 04, p. 87, 2016. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Rosane\\_Guerra/publication/301713507\\_Antimicrobial\\_and\\_Antioxidant\\_Activity\\_of\\_Anacardium\\_occidentale\\_L\\_Flowers\\_in\\_Comparison\\_to\\_Bark\\_and\\_Leaves\\_Extracts/links/5739d87108ae298602e36302.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rosane_Guerra/publication/301713507_Antimicrobial_and_Antioxidant_Activity_of_Anacardium_occidentale_L_Flowers_in_Comparison_to_Bark_and_Leaves_Extracts/links/5739d87108ae298602e36302.pdf). Acesso em: 21 Abr. 2022.

SILVA, Rubenice Amaral da et al. AÇÃO ANTIMICROBIANA DE *Anacardium Occidentale* L: potencial biotecnológico na geração de produtos anticárie. 2012. Disponível em: <https://tede2.ufma.br/jspui/handle/tede/73#preview-link0>. Acesso em 04 Mai. 2022.

SILVA, Jackeline G. da et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Rev Bras Farmacogn**, v. 17, n. 4, p. 572-7, 2007. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-695X2007000400016](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2007000400016). Acesso em 04 Mai. 2022.

SOUSA, Lourimar Viana Nascimento F. de et al. Isolation and identification of *Candida* species in patients with orogastric cancer: susceptibility to antifungal drugs, attributes of virulence in vitro and immune response phenotype. **BMC infectious diseases**, v. 16, n. 1, p. 86, 2016. Disponível em: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-016-1431-4>. Acesso em: 27 Abr. 2022.

SOUZA, Alessandra de Albuquerque T.; MARIA DO SOCORRO, V.; HIGINO, Jane S. Atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 2, p. 202-205, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v16n2/v16n2a12>. Acesso em 04 Mai. 2022.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. Micro-organismos e doenças humanas. In: TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **MICROBIOLOGIA**. Porto Alegre, RS: Artmed, 2012.

VIEIRA, Ana Júlia Hoffmann; SANTOS, J. I. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **Brazilian Journal of Clinical Analyses**, v. 49, n. 3, p. 235-9, 2017. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/wp->

content/uploads/2017/11/RBAC-vol-49-3-2017-revista-completa-corrigida.pdf#page=18.  
Acesso em: 18 Abr. 2022.

VIEIRA, Francisca; NASCIMENTO, Teresa. Resistência a fármacos antifúngicos por *Candida* e abordagem terapêutica. **Revista Portuguesa De Farmacoterapia**, v. 9, p. 29-36, 2017. Disponível em:  
[https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/33791/1/Artigo\\_TNascimento\\_2017\\_01.pdf](https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/33791/1/Artigo_TNascimento_2017_01.pdf).  
Acesso em 04 Mai. 2022.

VILA, Taissa et al. Oral candidiasis: a disease of opportunity. **Journal of Fungi**, v. 6, n. 1, p. 15, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7151112/pdf/jof-06-00015.pdf>. Acesso em: 18 Abr. 2022.

WHALEY, Sarah G. et al. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans Candida* species. **Frontiers in microbiology**, v. 7, p. 2173, 2017. Disponível em:  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.02173/full>. Acesso em: 24 Abr. 2022.

**ANEXO: COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO AO CEP**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA  
PARAÍBA - PRÓ-REITORIA DE  
PÓS-GRADUAÇÃO E  
PESQUISA / UEPB - PRPGP

**COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** TOXIDEX E MECANISMO DE AÇÃO DO EXTRATO DE *Anacardium occidentale* L. SOBRE *Candida* sp

**Pesquisador:** Jozinete Vieira Pereira

**Versão:** 1

**CAAE:** 60717922.6.0000.5187

**Instituição Proponente:** Universidade Estadual da Paraíba - UEPB

**DADOS DO COMPROVANTE**

**Número do Comprovante:** 076919/2022

**Patrocinador Principal:** MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

Informamos que o projeto TOXIDEX E MECANISMO DE AÇÃO DO EXTRATO DE *Anacardium occidentale* L. SOBRE *Candida* sp que tem como pesquisador responsável Jozinete Vieira Pereira, foi recebido para análise ética no CEP Universidade Estadual da Paraíba - Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa / UEPB - PRPGP em 18/07/2022 às 08:33.

**Endereço:** Av. das Baraúnas, 351- Campus Universitário  
**Bairro:** Bodocongó **CEP:** 58.109-753  
**UF:** PB **Município:** CAMPINA GRANDE  
**Telefone:** (83)3315-3373 **Fax:** (83)3315-3373 **E-mail:** cep@setor.uepb.edu.br