



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Mestrado

CARLA MILENA AMORIM SÁ

**PARÂMETROS DE QUALIDADE, EFICÁCIA E SEGURANÇA
DAS FOLHAS DE *Anacardium occidentale* L. DA
AMAZÔNIA MARANHENSE: abordagem integrada entre
Farmacognosia, Microbiologia e Ecotoxicologia**

São Luís
2024

CARLA MILENA AMORIM SÁ

**PARÂMETROS DE QUALIDADE, EFICÁCIA E SEGURANÇA
DAS FOLHAS DE *Anacardium occidentale* L. DA
AMAZÔNIA MARANHENSE: abordagem integrada entre
Farmacognosia, Microbiologia e Ecotoxicologia**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador (a): Prof.(a) Dra. Denise Fernandes Coutinho

Co-orientador: Prof. Dr. Wellyson da Cunha Araújo Firmo

São Luís

2024

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Sá, Carla Milena Amorim.

PARÂMETROS DE QUALIDADE, EFICÁCIA E SEGURANÇA DAS
FOLHAS DE *Anacardium occidentale* L. DA AMAZÔNIA
MARANHENSE: abordagem integrada entre Farmacognosia,
Microbiologia e Ecotoxicologia / Carla Milena Amorim Sá. -
2024.

179 p.

Coorientador(a) 1: Wellyson da Cunha Araújo Firmo.

Orientador(a): Denise Fernandes Coutinho.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
São Luís - Ma, 2024.

1. Antibacteriano. 2. Atividade Hemolítica. 3.
Cajueiro. 4. Estômatos Paracíticos. 5. Tenebrio Molitor.
I. Coutinho, Denise Fernandes. II. Firmo, Wellyson da

CARLA MILENA AMORIM SÁ

**PARÂMETROS DE QUALIDADE, EFICÁCIA E SEGURANÇA
DAS FOLHAS DE *Anacardium occidentale* L. DA
AMAZÔNIA MARANHENSE: abordagem integrada entre
Farmacognosia, Microbiologia e Ecotoxicologia**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação
em Ciências da Saúde da
Universidade Federal do
Maranhão, como requisito
parcial para obtenção do título
de Mestre em Ciências da
Saúde.

Aprovada em: / / .

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Denise Fernandes Coutinho (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Wellyson da Cunha Araújo Firmo (Co-orientador)
Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

1º Examinador Prof. Dra. Rachel Melo Ribeiro
Universidade Federal do Maranhão

2º Examinador Prof. Dra. Amanda Silva dos Santos Aliança
Universidade Ceuma

3º Examinador Prof. Dra. Crisálida Machado Vilanova
Universidade Federal do Maranhão

“O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período mais difícil da vida de alguém.”

Dalai Lama

Por toda dor que sentiste, e todo amor que sem medida me deste, sei que não eras deste mundo. Tua generosidade e força, com certeza, guiam minha trajetória. Por isso, dedico este trabalho (e a minha existência) a quem com muita luta me fez chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Profa. Dra. Denise Coutinho pela sua contribuição durante esse período.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Wellyson Firmo por seus ensinamentos, atenção e paciência. A sua dedicação e devoção pela profissão são uma grande inspiração para mim.

Ao meu pai Carlos Sá e minha irmã Jéssica Sá por todo apoio e amor incondicionais. Vocês são a razão da minha vida. Tudo que sou e faço é por vocês;

A minha mãe Irislene Amorim (*in memoriam*) por ser minha grande incentivadora, além de exemplo de ser humano e profissional.

Aos amigos que cultivei nessa jornada, que passaram pelos perrengues e alegrias. Em especial a Profa. Dra. Clenilma Brandão, Lucas Povoas, João Nantes, Mirla Ferreira, Joyce Mesquita, Christian Brito e Jeovana Martins.

A equipe do Laboratório de Farmacognosia do curso de Farmácia da Universidade Federal do Maranhão, com menção às técnicas de laboratório Elian Chaves, Wilany Chagas, Sr Magalhães e Margareth Penha por toda ajuda durante os experimentos e demais processos.

Ao Laboratório de Ciências Biomédicas da Universidade CEUMA, às Profa. Dra. Priscila Sabbadini e Profa. Dra. Amanda Aliança pelo acolhimento e demais alunos, e também aos técnicos Hélio e Marinaldo pelo auxílio e disposição a ajudar.

Ao Núcleo de Agroecologia e ao Grupo Biomassa do Instituto Federal do Maranhão, minha eterna gratidão por todo auxílio durante esse processo. Grata às Profa. Dra. Kiany e Profa. Dra. Georgiana por me acolherem, e a aos demais colegas do LaMICRO.

As queridas Mariana Monteiro e Joana Athayde pelo carinho, acolhimento e zelo comigo durante esses anos. Certamente essa jornada não seria a mesma sem o cuidado de vocês.

A todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para que esse sonho se tornasse realidade. Muito obrigada.

RESUMO

Anacardium occidentale L., conhecido popularmente como cajueiro, é uma espécie nativa do nordeste brasileiro amplamente utilizada por suas propriedades terapêuticas, incluindo efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e antimicrobianos. As folhas desta espécie, as quais são responsáveis por tais atividades, são subutilizadas. E sua análise permite compreender sua composição e respostas adaptativas. Este estudo teve como objetivo realizar estudo de validação das folhas *A. occidentale* L., cultivadas na Amazônia Maranhense, a partir da determinação de parâmetros de autenticidade e da investigação do potencial antimicrobiano e da segurança do uso dessa espécie. As amostras foram coletadas no bairro Itaqui-Bacanga em São Luís, Maranhão, nos meses de setembro e outubro de 2022, e identificadas no Herbário do Maranhão/UFMA. As folhas frescas foram submetidas a análises morfoanatômicas à vista desarmada e por secções paradérmicas e transversais. Após secagem e pulverização, o material foi submetido a maceração em etanol 70%, obtendo-se o extrato bruto hidroalcoólico das folhas (EBF). O EBF foi posteriormente fracionado de forma sucessiva com solventes de polaridade crescente, obtendo-se as frações em hexano (FHX), clorofórmio (FCL) e em acetato de etila (FAC). As análises químicas incluíram testes fitoquímicos e cromatografias em camada delgada (CCD) e líquida de alta eficiência (CLAE). A atividade antibacteriana foi avaliada contra *Staphylococcus aureus* (cepas ATCC 25923, ATCC 6538 e clínica) pelos métodos de difusão em ágar e microdiluição em placas de 96 poços, determinando-se os halos de inibição, a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM). A toxicidade foi avaliada por testes de hemólise e de larvas de *Tenebrio molitor*. As folhas mostraram-se hipoestomáticas, com estômatos paracíticos, mesófilo dorsiventral e raros tricomas glandulares. A análise química do EBF indicou a presença de flavonoides e terpenos. Enquanto que das frações FHX, FCL e FAC observaram-se taninos, fenóis, flavonoides e saponinas. O EBF e a FAC demonstraram atividade inibitória significativa contra *S. aureus*, com halos de inibição de 12 a 26,3 mm, respectivamente, ambos na concentração de 2 mg/mL. As CIM foram de 2 mg/mL para EBF e 1 mg/mL para FAC. A CBM foi observada apenas para FAC (2 mg/mL) contra a cepa *S. aureus* ATCC 25923. A atividade hemolítica foi baixa (CE₅₀ entre 1799 e 8863 µg/mL), e a taxa média de sobrevivência das larvas de *Tenebrio molitor* foi de 70% nas concentrações avaliadas. Este estudo contribui para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas, reforçando diretrizes de qualidade, eficácia e segurança das folhas de *A. occidentale*, além de evidenciar sua atividade bacteriostática e bactericida, com baixa toxicidade.

Palavras-chave: Antibacteriano; atividade hemolítica; autenticidade; cajueiro; estômatos paracíticos; flavonoides; *Tenebrio molitor*.

ABSTRACT

Anacardium occidentale L., popularly known as cashew tree, is a native species from northeastern Brazil widely used for its therapeutic properties, including antioxidant, anti-inflammatory, and antimicrobial effects. The leaves of this species, which are responsible for such activities, are underutilized. Their analysis allows us to understand their composition and adaptive responses. This study aimed to validate *A. occidentale* L. leaves grown in the Maranhão Amazon by determining authenticity parameters and assessing the species' antimicrobial potential and safety. The samples were collected in the Itaquí-Bacanga area in São Luís, Maranhão, in September and October 2022, and identified in the Maranhão Herbarium/UFMA. The fresh leaves were subjected to morphoanatomical analyses with unaided vision and by paradermal and cross sections. After drying and spraying, the material was subjected to maceration in 70% ethanol, obtaining the crude hydroalcoholic extract of the leaves (EBF). The EBF was subsequently fractionated successively with solvents of increasing polarity, obtaining the fractions in hexane (FHX), chloroform (FCL), and ethyl acetate (FEA). Chemical analyses included phytochemical tests thin layer chromatography (TLC), and high-performance liquid chromatography (HPLC). The antibacterial activity was evaluated against *Staphylococcus aureus* (strains ATCC 25923, ATCC 6538, and clinical) by agar diffusion and microdilution methods in 96-well plates, determining the inhibition zones, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Toxicity was evaluated by hemolysis and *Tenebrio molitor* larvae tests. The leaves were hypostomatic, with paracytic stomata, dorsiventral mesophyll, and rare glandular trichomes. Chemical analysis of EBF indicated the presence of flavonoids and terpenes. While the fractions FHX, FCL, and FEA showed tannins, phenols, flavonoids and saponins. EBF and FEA demonstrated significant inhibitory activity against *S. aureus*, with inhibition zones of 12 to 26.3 mm, respectively, at a 2 mg/mL concentration. The MICs were 2 mg/mL for EBF and 1 mg/mL for FEA. The MBC was observed only for FAC (2 mg/mL) against the *S. aureus* ATCC 25923 strain. The hemolytic activity was low (EC₅₀ between 1799 and 8863 µg/mL), and the average survival rate of *Tenebrio molitor* larvae was 70% at the concentrations evaluated. This study contributes to the advancement of new therapeutic strategies, reinforcing guidelines for the quality, efficacy, and safety of *A. occidentale* leaves, furthermore evidencing their bacteriostatic and bactericidal activity, with low toxicity.

Key-words: Antibacterial; authenticity; cashew tree; flavonoids; hemolytic activity; paracytic stomata; *Tenebrio molitor*.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1 -	Determinação qualitativa das classes metabólicas do extrato bruto hidroalcólico e frações das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	74
Tabela 2 -	Atividade antibacteriana do extrato bruto hidroalcoólico e frações de <i>Anacardium occidentale</i> Linn contra <i>Staphylococcus aureus</i> pelo método de difusão em ágar.....	76
Tabela 3 -	Concentração inibitória e bactericida mínima do extrato bruto hidroalcoólico e frações de <i>Anacardium occidentale</i> Linn contra <i>Staphylococcus aureus</i>	77
Tabela 4 -	Compostos identificados a partir do extrato hidroalcólico das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L.	82
Tabela 5 -	Compostos identificados a partir da fração acetato de etila das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L.	85
Tabela 6 -	Avaliação hemolítica do extrato bruto hidroalcólico e frações de <i>Anacardium occidentale</i> Linn.....	88

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 -	Representação da utilização de plantas medicinais como prática de repasse de conhecimento através de gerações e como recurso terapêutico.....	17
Figura 2 -	<i>Anacardium occidentale</i> L.(cajueiro): espécie arbórea.....	30
Figura 3 -	Fluxograma das etapas empregadas na pesquisa para identificação e análise de potencial terapêutico de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	33

CAPÍTULO 1

Figura 1 -	<i>Anacardium occidentale</i> L. A - Superfície adaxial da lâmina foliar. B - Superfície abaxial da lâmina foliar.....	49
Figura 2 -	<i>Anacardium occidentale</i> L. secção paradérmica da folha. A – face adaxial. B – face abaxial.....	50
Figura 3 -	<i>Anacardium occidentale</i> L. secção paradérmica da folha. A, B e C– face abaxial. D – face adaxial.....	51
Figura 4 -	<i>Anacardium occidentale</i> L. secção transversal da lâmina foliar. A e E – Aspecto geral da nervura principal. B – Mesofilo isofacial. C - Detalhe do mesofilo. D – Aspecto geral da nervura principal evidenciando ductos no floema.....	52
Figura 5 -	<i>Anacardium occidentale</i> L. secção transversal da lâmina foliar. A – Aspecto geral da nervura principal evidenciando cavidade. B – Superfície adaxial da epiderme evidenciando tricoma glandular. C - Detalhe do mesofilo evidenciando cavidade.....	53

Figura 6 -	<i>Anacardium occidentale</i> L. Análise microscópica do pó. A – Fragmentos da epiderme evidenciando drusas. B – Fragmentos da epiderme em vista frontal. C – Fragmentos da epiderme em vista frontal com estômatos paracíticos. D – Fragmentos da epiderme evidenciando grãos de amido.....	55
Figura 7 -	Placa cromatográfica contendo fingerprint do extrato bruto de <i>A. occidentale</i> L. (à direita) e o padrão de referência do ácido gálico (à esquerda). Fase Móvel: Acetato de etila/Hexano (6:4). A - Leitura em Câmara UV 254 nm. B- Leitura em Câmara UV 365 nm.....	56
Figura 8 -	Placa cromatográfica contendo fingerprint do extrato bruto de <i>A. occidentale</i> L. (à esquerda) e o padrão de referência do ácido gálico (à direita). Fase Móvel: Diclorometano (100). A - Leitura em Câmara UV 254 nm. B- Leitura em Câmara UV 365 nm.....	57
Figura 9 -	Placa cromatográfica contendo fingerprint do extrato bruto de <i>A. occidentale</i> L. (à esquerda) e o padrão de referência do ácido gálico (à direita). Fase Móvel: Acetato de etila/Ácido fórmico (95:5). A - Leitura em Câmara UV 254 nm. B- Leitura em Câmara UV 365 nm.....	58

CAPÍTULO 2

Figura 1 -	Cromatograma do extrato hidroalcolólico das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	80
Figura 2 -	Cromatograma da fração acetato de etila das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	80
Figura 3 -	Estruturas dos compostos identificados a partir do extrato bruto e fração acetato de etila das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	87
Figura 4 -	Porcentagem de sobrevivência de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> após a injeção do extrato bruto e frações de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMH	Ágar Mueller Hinton
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
CA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina adquiridas na comunidade
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CLAE-EM	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Acoplada ao Espectômetro de Massas
DMSO	Dimetilsulfóxido
EBH	Extrato Bruto Hidroalcoólico
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
MSSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Sensível à Meticilina
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Phosphate buffered saline
RAM	Resistência Antimicrobiana
UFC	Unidades formadoras de colônias
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.5
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 Estudos de validação de espécies vegetais.....	Erro! Indicador não definido.7
2.2 Seleção de espécies vegetais	Erro! Indicador não definido.8
2.3 Estudos de padronização de extratos vegetais.....	20
2.4 Parâmetros de qualidade.....	21
2.5 Avaliação de segurança.....	23
2.5.1 Estudos de toxicidade <i>in vitro</i>	24
2.5.2 Estudos de toxicidade <i>in vivo</i>	25
2.6 Avaliação de atividade biológica – ênfase na atividade antimicrobiana	26
2.6.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	28
2.7 <i>Anacardium occidentale</i> L.....	29
3 OBJETIVOS.....	32
3.1 Objetivo geral	32
3.2 Objetivos específicos.....	32
4 METODOLOGIA	33
REFERÊNCIAS.....	34
5 CAPÍTULO 1 - Estudo Farmacognóstico das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> Linn da Amazônia Maranhense.....	45
6 CAPÍTULO 2 – Estudo químico, antibacteriano e toxicológico das folhas de <i>Anacardium occidentale</i> Linn da Amazônia Maranhense	66
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	99
8 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	100
ANEXOS	101
ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.....	102
ANEXO B – Identificação botânica	105
ANEXO C – Dados dos Espectros de massa do extrato bruto hidroalcólico..	106
ANEXO D – Dados dos Espectros de massa da fração acetato de etila.....	148
ANEXO E – Declaração de publicação de artigo “Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana, sinergismo e toxicidade de <i>Scoparia dulcis</i> linn”	177

1 INTRODUÇÃO

A utilização de espécies vegetais para fins medicinais remonta a origem da humanidade. Em países em desenvolvimento estima-se que 80% de sua população depende do uso tradicional de plantas para cuidados com a saúde no âmbito primário (Abdala, 2012; WHO, 2013; Oliveira, Mezzomo; Moraes, 2018). De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), uma planta medicinal é qualquer planta silvestre ou cultivada utilizada para fins medicinais. Um fitoterápico é um produto manufaturado que contém um ou mais componentes terapeuticamente ativos extraídos exclusivamente de plantas (partes aéreas ou não, sucos, resinas, óleos, etc.) brutos ou processados (Arias, 1999).

As plantas e suas preparações são empregadas com finalidade preventiva, curativa e para tratamento de inúmeras doenças. É culturalmente aceito que esses produtos, por serem de origem natural, se encontram seguros e sem efeitos adversos (Oliveira *et al.*, 2018; Amaral *et al.*, 2019). Isso favorece o aporte de produtos “naturais” com eficácia não comprovada, a automedicação e dificuldade de assegurar a saúde do usuário (Nicoletti *et al.*, 2015; Simões *et al.*, 2017). Diante disso, é essencial garantir a segurança, qualidade e eficácia desses insumos, considerando seu potencial como matéria-prima para o desenvolvimento de novos fármacos (Gertsch, 2009; Calvo; Caverro, 2014).

A validação científica das propriedades terapêuticas de produtos de origem vegetal é um passo crucial no desenvolvimento de fármacos. Esse processo envolve estudos botânicos, químicos e farmacológicos, além de testes que verifiquem a autenticidade, pureza e ausência de toxicidade, minimizando riscos como intoxicação e interações medicamentosas (Maciel *et al.*, 2002; Abranches, 2012; Brandão, 2017; Lazzarotto-Figueiró *et al.*, 2021).

Produtos validados, com composição definida e constante, tornam-se candidatos viáveis para aplicações terapêuticas seguras e eficazes (Kunle *et al.*, 2012).

Assim, esse trabalho visa realizar estudo de validação das folhas de *Anacardium occidentale* L. a partir da determinação de parâmetros de autenticidade e da investigação do potencial antimicrobiano e da segurança do uso dessa espécie.

Os resultados são apresentados em 02 (dois) artigos intitulados: a) Capítulo 1: “Estudo das folhas de *Anacardium occidentale* L. da Amazônia Maranhense: Parâmetros para o controle de qualidade”; b) Capítulo 2: “Estudo antibacteriano e toxicológico das folhas de *Anacardium occidentale* L. da Amazônia Maranhense”.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Estudos de validação de espécies vegetais

No decorrer de anos, a humanidade tem aderido ao aprendizado acerca de plantas medicinais, e sua utilização como fármaco. Ultimamente, tem se observado o emprego de produtos naturais por parte significativa da população, lugar que antes era ocupado por produtos alopáticos (Carneiro *et al.*, 2014).

Através de sua rica diversidade sociocultural e biodiversidade, e preservação da aplicação de plantas como recurso terapêutico, o Brasil é reconhecido; mantendo a herança das comunidades tradicionais, além da adoção da Fitoterapia como parte da Política Nacional de Saúde, particularmente na Atenção Primária à Saúde (Nespoli *et al.*, 2021).

Cerca de 82% da população brasileira, seja tradicional (indígenas, quilombolas e demais comunidades) ou não tradicional, utilizam elementos provenientes de espécies vegetais nos seus cuidados à saúde; caracterizando uma prática cultural com transmissão geracional (Figura 1). As plantas medicinais dispõem de componentes ativos, comprovados cientificamente quanto à sua eficácia e segurança, seja na cura, prevenção e recuperação de diferentes tipos de patologias (Morais, 2019; Penha, 2021).



Figura 1. Representação da utilização de plantas medicinais como prática de repasse de conhecimento através de gerações e como recurso terapêutico. **Fonte:** Elaborado pela autora (2024) criado com BioRender.

No entanto, a utilização empírica de espécies vegetais e seus derivados é insuficiente para a validação destas como fármacos, sendo imprescindível a

garantia científica da segurança e eficácia do uso terapêutico de plantas e seus insumos. Para além do emprego popular, o uso de espécies vegetais é, também, alvo da indústria farmacêutica para o desenvolvimento de novos medicamentos diante dos inúmeros benefícios que traz (Ghante; Jamkhande, 2019; Newman; Cragg, 2020).

Os estudos de validação analisam cientificamente as propriedades terapêuticas contidas em matérias-primas vegetais, na busca por certificar a eficácia e segurança para o uso medicinal em seres vivos (Sales *et al.*, 2015; Slmões *et al.*, 2017). Esses estudos consistem em confirmar a eficácia farmacológica e ausência de toxicidade de plantas. Envolvendo tanto ensaios químicos quanto botânicos (Brandão, 2009).

Os parâmetros básicos atribuídos à validação de espécies vegetais incluem a coleta de dados; seleção, coleta e processamento do material vegetal; métodos de extração; avaliação de atividade biológica – como atividade antimicrobiana; isolamento e processos de identificação de compostos ativos; e a segurança e estudos de eficácia (Mussin; Giusiano, 2020).

Outras etapas que integram o processo final de validação de espécies vegetais envolvem um trabalho com as comunidades para que se torne possível o uso correto da planta medicinal. Estas são as etapas de transmissão de informações para que um eventual produto possa ser produzido ou consumido de forma correta. A validação científica de uso medicinal requer tempo, recursos financeiros e humanos que devem ser utilizados da melhor maneira possível, impedindo conclusões incorretas acerca de qualquer questão analisada (Camurça-Vasconcelos *et al.*, 2005).

2.2 Seleção de espécies vegetais

No processo de descoberta e desenvolvimento de constituintes ativos a partir de espécies vegetais, há estratégias que devem ser adotadas, dentre estas, destaca-se a importância da designação de parâmetros para seleção de insumos para análise científica (Albuquerque *et al.*, 2014).

Existem muitas abordagens para selecionar as espécies vegetais para o estudo farmacológico: a abordagem etnofarmacológica, a abordagem aleatória, a abordagem quimiosistemática, entre outras. Ao longo de milênios, os seres humanos têm melhorado o seu conhecimento sobre plantas medicinais através

da experiência de tentativa e erro, e transferência desse conhecimento. Portanto, a abordagem etnofarmacológica ainda é a mais eficiente para a descoberta de novas moléculas. Esta abordagem é baseada na seleção das espécies vegetais de acordo com seu uso tradicional (Atanasov *et al.*, 2015). Estima-se que 74% dos compostos bioativos derivados de plantas foram descobertos após verificação da abordagem etnofarmacológica (Ncube *et al.*, 2008).

Nesse sentido, os estudos etnofarmacológicos, com objetivo de testar as hipóteses sugeridas tradicionalmente, as quais representam as experiências vividas ao longo de gerações, têm fornecido importantes subsídios no estabelecimento de critérios de inclusão e/ou exclusão de espécies vegetais para desenvolvimento de estudos de validação, possibilitando o desenvolvimento de fitoterápicos a partir de espécies vegetais selecionadas por inquérito etnofarmacológico (Albuquerque *et al.*, 2014).

Portanto, a etnofarmacologia é uma abordagem valiosa para a seleção e estudo de espécies medicinais, especialmente quando combinada com métodos científicos rigorosos. Ao unir o conhecimento tradicional com a investigação científica moderna, é possível descobrir novos recursos terapêuticos e contribuir para a preservação do conhecimento cultural e da biodiversidade (Brasil, 2012; Ferreira *et al.*, 2015; Valeriano *et al.*, 2020).

O uso prolongado por determinados grupos étnicos e/ou populações tradicionais pode ser encarado como pré-triagem quanto à utilidade terapêutica; porém não é suficiente para validar plantas como medicamentos (Oliveira *et al.*, 2009; Rangel; Brangança, 2009; Albuquerque *et al.*, 2014).

Outro aspecto relevante é a identificação dos recursos naturais, sejam eles de origem vegetal, animal ou mineral, mencionados pelas comunidades tradicionais durante os inquéritos realizados em estudos etnodirigidos, pois essa etapa é essencial para a continuidade do estudo, já que cada recurso terá composição química e, conseqüentemente, ações biológicas específicas (Elizabetsky; Sousa, 2010; Harvey *et al.*, 2014; Bennett; Balick, 2014).

A abrangência da pesquisa etnofarmacológica evidencia seu potencial como estratégia no processo de seleção de espécies vegetais em estudos de validação, e como guia para condutas efetivas de Farmacovigilância, no intuito de amortizar perigos e riscos vinculados ao uso irracional de plantas para fins medicinais (Maribondo, 2021).

2.3 Estudo de padronização de extratos vegetais

Os extratos vegetais configuram as preparações mais utilizadas em estudos de validação, assim como em formulações derivadas. Entendendo que tais preparações estão sujeitas a inúmeras variáveis que afetam diretamente sua composição química e ação terapêutica, é fundamental a padronização desses extratos, considerando sua bioatividade e fitoquímica (Lazzarotto-Figueiró *et al.*, 2021).

É requerido que os estudos de validação priorizem a avaliação de seus extrativos através de planejamento fatorial, delineando as variáveis envolvidas na extração, uma vez que caracteriza uma fase crucial na obtenção de fitoterápicos, assegurando a separação de substâncias alvo da matriz complexa (Amaral *et al.* 2021).

O ponto chave na obtenção de produtos de origem vegetal e medicamentos fitoterápicos é a padronização. Durante a produção de extratos a partir de matéria prima vegetal, pode-se considerar a padronização como uma condição em que a eficácia do produto é garantida através da constância no teor de um ou mais de seus constituintes. A padronização de extratos de produtos naturais visa o estabelecimento de parâmetros de controle de qualidade para a matéria prima vegetal (incluindo extratos vegetais e fito-constituintes) e para o produto finalizado (extratos secos, óleos essenciais) com rigoroso controle de todas as etapas envolvidas no processamento (Souza, 2007; Anvisa, 2019). Por isso, é de extrema importância a caracterização física e físico-química dos extratos obtidos nos processos, assim como a análise crítica das influências que os parâmetros de processo utilizados promovem.

Os extratos padronizados são obtidos a partir de soluções extrativas, produto preliminar da extração, que utiliza solventes para a retirada seletiva de compostos de interesse da matéria-prima vegetal. Esses solventes podem ser aquosos, hidroetanólicos, hidropoligólicos ou oleosos (Simões *et al.*, 2010).

O objetivo da padronização de extração para plantas medicinais é obter frações de interesse terapêutico, e eliminar material indesejado por tratamento com solventes seletivos. O extrato obtido, após padronização, pode ser utilizado como agente medicinal sob a forma de tinturas ou extratos fluidos, ou, posteriormente, processado para ser incorporado em qualquer forma

farmacêutica, como comprimidos e cápsulas. Esses produtos incluem mistura complexa formada de muitos metabólitos vegetais, como alcaloides, glicosídeos, terpenoides, flavonoides e lignanas (Handa, 2008).

A utilização dos extratos vem sendo apresentada para aperfeiçoar a extração de compostos químicos, para garantir reprodutibilidade da formulação proposta e viabilizar uma padronização na produção. Alguns fatores devem ser avaliados na etapa de desenvolvimento, como: o estado de divisão da matéria-prima vegetal; agitação submetida ao material durante a fase de extração; temperatura empregada; natureza do solvente; pH; e tempo de extração (Simões *et al.*, 2010; Tomasi, 2021).

A não padronização dos processos de extração pode levar à degradação dos constituintes fitoquímicos presentes nas plantas e às variações que acarretam na falta de reprodutibilidade. Devem ser feitos esforços para produzir lotes com qualidade tão consistente quanto possível (dentro do intervalo mais estreito possível), e para desenvolver e acompanhar os melhores processos de extração (Tiwari *et al.*, 2011; Santos, 2023).

A partir desses preceitos, é fundamental tratarmos sobre parâmetros que se referem ao controle de qualidade do material vegetal. Para tanto, é imprescindível saber que o uso cauteloso e racional de plantas medicinais e seus derivados advém, inicialmente, de uma minuciosa investigação acerca de aspectos que denotem a segurança da matéria-prima vegetal (Anvisa, 2010b; Santos, 2023).

2.4 Parâmetros de qualidade

Entre os estudos necessários para garantir a segurança, eficácia e qualidade de uma droga vegetal encontram-se os testes de autenticidade, integridade e pureza. Configuram como procedimentos básicos para a validação de drogas vegetais, além de fornecer subsídios para o desenvolvimento de metodologias, e determinar parâmetros para o controle de qualidade de espécies vegetais (Frasson *et al.*, 2003).

Para que se certifique a autenticidade do material, prioriza-se a correta identificação botânica, visto que, na maior parte das vezes, em coletas, as plantas são referenciadas por seus nomes vernaculares. Em estudos prévios que determinam parâmetros de qualidade, eficácia e segurança, após a coleta

do exemplar, são preparadas exsiccatas e realizada a identificação em herbários reconhecidos (Verdam; Silva, 2010). Outras ferramentas para garantia de autenticidade do material vegetal são, preferencialmente, as análises de características morfoanatômicas, macroscópicas e microscópicas, mas também pode-se utilizar análises de perfil cromatográfico, perfil por reações histoquímicas e análise do Ácido Desoxirribonucleico (DNA) como a técnica de DNA Barcoding. Uma vez determinados esses parâmetros, quando da utilização comercial dessas matérias-primas, sua autenticidade será elaborada através de suas características farmacobotânicas, quimiomoleculares da parte do vegetal de interesse (Sucher; Carles, 2008; Kunle *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2014; Soares; Farias, 2017).

No caso da matéria-prima ser a droga vegetal, algumas características organolépticas, como cor, textura, odor e sabor são levadas em consideração. Além disso, as características macroscópicas, como a forma da droga (seja planta inteira, folhas, caule, raiz, tinturas, extratos fluidos, óleos, gorduras e ceras, por exemplo) e microscópicas, obtidas por cortes histológicos das partes da planta ou do pó, também são importantes para a identidade da matéria-prima. Dependendo do grau de fragmentação da droga, pode-se empregar características morfológicas ou microscópicas, ou ambas, para concluir sua identificação (Anvisa, 2010b; Anvisa, 2019).

Uma técnica bastante utilizada como uma ferramenta analítica é a cromatografia em camada delgada, que avalia o perfil fitoquímico da planta ou do seu derivado, comparando a sua “fingerprint” à de uma amostra de referência (Hariprasad; Ramakrishnan, 2012). Uma vez que se observa a constituição de substâncias químicas do insumo vegetal, garante-se, também, a qualidade e a segurança quanto à sua eficácia terapêutica (Santos, 2023).

Uma das estratégias que visam garantir essa integridade é a padronização no processamento do material vegetal estudado, possibilitando a otimização na obtenção dos compostos bioativos e definindo marcadores analíticos e/ou ativos para controle de qualidade da espécie e dos seus produtos derivados (Hu *et al.*, 2019; Lima *et al.*, 2020; Lazzarotto-Figueiró *et al.*, 2021).

Assim, a análise química de constituintes ou metabólitos secundários representa parâmetro de avaliação de integridade indispensável no controle de qualidade, considerando que as matérias-primas vegetais podem apresentar

variabilidade na composição química, dependendo de vários fatores intrínsecos e extrínsecos, influenciando na concentração de constituintes químicos no material vegetal e, conseqüentemente, na segurança e eficácia (Kunle *et al.*, 2012; Amaral *et al.*, 2021).

A análise de pureza do material vegetal, que está relacionada à pesquisa de elementos estranhos, orgânicos ou inorgânicos, endógenos ou exógenos, (como areia, insetos, fungos ou qualquer outro elemento que não seja parte da planta; ou até mesmo alguma parte da planta que não seja aquela destinada ao uso terapêutico); além do teor de umidade, contaminação microbiológica e parasitária, resíduos de pesticidas e metais pesados, entre outros; é uma etapa imprescindível na garantia de qualidade do produto a ser utilizado (Anvisa, 2010; Anvisa, 2019; Brasil, 2019).

Uma vez que se avalia a autenticidade e a pureza dos insumos, é imprescindível garantir que aquela planta medicinal ou droga/derivado vegetal apresente os seus componentes químicos que garantam sua atividade terapêutica. Assim, orienta-se também uma avaliação qualitativa e quantitativa dos compostos ou grupos de compostos que representem os princípios ativos e/ou marcadores, se conhecidos (Anvisa, 2010b; Anvisa, 2019).

2.5 Avaliação de segurança

O emprego de plantas no tratamento de diferentes doenças ocorre há anos e vem sendo explorado até os dias atuais. Porém, a ideia de que plantas com fins medicinais são sempre seguras e livres de efeitos colaterais deve ser revista numa ótica mais realista e responsável, sendo constatado que por desconhecimento e/ou divulgação errônea das vantagens, benefícios e propriedades atribuídas a essa prática, têm sido disponibilizados produtos ditos medicinais de origem vegetal sem a garantia efetiva da recuperação e/ou preservação da saúde do usuário, expondo, assim, a população a riscos e perigos (Veiga Júnior, 2008, Silveira; Bandeira; Arrais, 2008; Godinho, 2014; Gonçalves, 2016).

É crucial destacar que o uso tradicional de espécies vegetais com base no mito “se natural não faz mal” sem comprovação de eficácia, toxicidade e qualidade expõe a população a riscos decorrentes do uso irracional (Campos *et al.*, 2016; Amaral *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2022).

Os princípios ativos presentes nas preparações à base de plantas são os principais responsáveis pela atividade biológica, contudo o seu uso de forma inadequada pode levar a diversos efeitos indesejados (Simões *et al.*, 2017).

É fundamental que o uso de espécies medicinais seja feito com cautela e conhecimento. A orientação de profissionais de saúde qualificados e informação sobre possíveis interações com outros medicamentos são essenciais para garantir a segurança e eficácia do uso dessas espécies medicinais. Além disso, a regulamentação, o monitoramento adequado, a pesquisa científica e a farmacovigilância são fundamentais para garantir a qualidade e a segurança dos produtos fitoterápicos disponíveis no mercado (WHO, 2002; Balbino e Dias, 2010).

O desenvolvimento de ações que orientem e monitorem a segurança e os eventuais riscos atrelados ao uso de produtos farmacêuticos, abrangendo produtos a partir de espécies vegetais, é evidente e necessário. No intuito de impedir riscos à saúde dos usuários, a identificação de espécies tóxicas, associações inadequadas e materiais de má qualidade, se torna imprescindível (Amaral *et al.*, 2021).

Independente da espécie vegetal selecionada, é indispensável o compromisso de exploração sustentável e utilização de material com garantia de qualidade, avaliado pelos aspectos de autenticidade, integridade e pureza (Carvalho, 2015).

2.5.1 Estudo de toxicidade *in vitro*

Mediante o uso popular de plantas, e sua associação com ocorrências de toxicidade (hepatotoxicidade, nefrotoxicidade e toxicidade dérmica), deve-se investigar a segurança em sua utilização. A partir de indicação popular mencionada, testes específicos são direcionados (Campos *et al.*, 2016).

Inicialmente, são utilizados testes *in vitro* e *in silico* para triagem da atividade a ser analisada, selecionando quais plantas dispõem de melhores resultados. Dessa forma, permite redução de gastos, otimização de tempo, além de prevenir a utilização indisciplinada de animais de experimentação (Camurça-Vasconcelos *et al.*, 2005).

Um método *in vitro* utilizado é avaliação da atividade hemolítica, considerando que a hemólise predispõe a quebra dos eritrócitos e acarreta a

liberação de hemoglobina no plasma, e, uma vez que esta se encontra livre, pode ser danosa à saúde do indivíduo pela sua ação em órgãos como coração, fígado e rins; sendo, então fundamental a análise de sua atividade (Carvalho *et al.*, 2007).

Outra metodologia usada é do ensaio de letalidade utilizando *Artemia salina* Leach, um microcrustáceo de fácil manuseio, baixo custo e rápida execução, que permite estimar a dose letal média (Luna *et al.*, 2005). E, ainda, o emprego de culturas celulares, para análise da citotoxicidade de amostras, com linhagens de células diversas, viabilizando reprodutibilidade, rapidez e sensibilidade a este modelo de estudo (Rogerio *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2010).

Somente após a obtenção de resultados promissores com os testes *in vitro* e *in silico*, passa-se aos testes de eficácia e toxicidade *in vivo* com utilização de animais, geralmente iniciando com roedores. Nesta fase, são então realizados testes que determinam a eficácia contra os agentes causadores e segurança quanto a ausência de toxicidade (Camurça- Vasconcelos *et al.*, 2005).

2.5.2 Estudo de toxicidade *in vivo*

Para avaliação de protocolos de segurança, com foco na elucidação de substâncias com potencial danoso aos seres vivos, são utilizados testes *in vivo* (Costa, 2013; Gromek *et al.*, 2015). Os ensaios *in vivo* recorrem a modelos com animais vertebrados e invertebrados.

Na investigação com animais vertebrados, são predominantemente empregados camundongos e ratos relativo à sua capacidade mais abrangente de análise de parâmetros imunológicos. Contudo, a utilização de animais determina aprovação em comitê de ética, requer manutenção com altos custos e a disposição de mão de obra especializada (Franco, 2022; Oliveira, 2022). Desse modo, observa-se o emprego significativo de animais invertebrados como modelo alternativo para ensaios de toxicidade e avaliação de atividade biológica. Com destaque para *Tenebrio molitor*, *Galleria mellonella* e *Drosophila melanogaster* (Mendes; Souza, 2017; Singulani, 2017; Menezes *et al.*, 2017).

O aumento na utilização desses modelos alternativos justifica-se pelo fácil manuseio e manutenção, além de ágil reprodutividade. Os invertebrados apresentam sistema imunológico inato semelhante ao dos vertebrados, manifestando infecções ocasionadas pelos mesmos patógenos que atingem os

humanos. Tal similaridade ampara e respalda seu uso como modelos alternativos (Franco, 2022).

T. molitor (Coleoptera: *Tenebrionidae*) é um inseto com ampla gama de aplicação, que possui quatro estágios distintos de vida: ovo, larva, pupa e besouro. São conhecidos, popularmente, como larva da farinha, tenebrião ou verme amarelo (Milanovic *et al.*, 2021). *T. molitor* exhibe mecanismos de defesa inata que incluem barreiras físicas, componentes humorais e celulares. Estudos demonstram a capacidade de utilização do *T. molitor* como hospedeiro alternativo, uma vez que este apresenta um elevado desempenho reprodutivo, indicando uma ótima adequabilidade a esse hospedeiro (Finke, 2002; Lavine; Strand, 2002; Faveiro, 2009; Vommaro, Giglio, 2021).

2.6 Avaliação da atividade biológica – ênfase na atividade antimicrobiana

No processo de validação, as plantas e seus produtos derivados (extratos, frações ou substâncias isoladas) após serem caracterizados quimicamente, seguem para a etapa de avaliação da atividade farmacológica, através de testes pré-clínicos e clínicos que visam determinar parâmetros de eficácia e segurança (Maciel *et al.*, 2002; Simões *et al.*, 2017).

A extensa biodiversidade brasileira representa uma fonte inestimável de novas substâncias, derivadas do metabolismo secundário de plantas, que podem apresentar atividades distintas, como antimicrobiana, antioxidante, analgésica, acaricida, entre outras. (Costa *et al.*, 2010; Santi *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2017).

Derivados do metabolismo primário através de rotas biossintéticas, os metabólitos secundários são substâncias orgânicas produzidas pelas células vegetais. Estes garantem a sobrevivência, reprodução e dispersão da espécie vegetal por meio de sua capacidade de atração de polinizadores e dispersores de sementes, comunicação entre plantas, proteção contra raios UV, além de ação contra herbívoros (Ootani *et al.*, 2013).

Ao conhecer a composição química da espécie vegetal a ser analisada, é possível delinear com mais precisão os melhores métodos de extração e os bioensaios aos quais deverão ser submetidos de forma *in vitro* e *in vivo* (Bessa *et al.*, 2013).

Para cada propriedade biológica a ser estudada, os ensaios *in vitro*

disponíveis devem ser usados primeiro, uma vez que estes bioensaios são mais rápidos e requerem menores quantidades de amostras (Cos *et al.*, 2006; Brusotti *et al.*, 2014). A escolha do teste deve combinar, de forma ideal, a simplicidade com boa sensibilidade e reprodutibilidade. Métodos aceitos e padronizados internacionalmente devem ser escolhidos.

Para avaliar a eficácia antibacteriana, duas técnicas são bastante utilizadas e propagadas entre profissionais no âmbito da microbiologia, como o teste de microdiluição seriada, bem como o teste de difusão em ágar, com a utilização de discos ou poços (Amorim, 2013; Queiroga, 2015; Leonêz *et al.*, 2018; Medeiros *et al.*, 2020).

O teste de difusão em ágar refere-se à semeadura de um microrganismo em meio de cultura sólido, diante de um composto antimicrobiano, o qual é testado sua eficácia com base no tamanho do halo de inibição formado ao redor de discos ou poços, relacionado com a concentração da substância aplicada. As zonas ou halos de inibição são medidas a partir da circunferência do poço ou disco ante a margem de crescimento microbiano (Pinto *et al.*, 2003; Ostrosky *et al.*, 2008).

Enquanto a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) de extratos vegetais ocorrem a partir de microdiluição seriada em caldo, considerando a proporção de crescimento do microrganismo em meio de cultura líquido e a concentração da substância analisada. Este método fornece dados quantitativos, possui boa reprodutibilidade, requer quantidade modesta de amostra, além de não ser influenciado pela velocidade de crescimento microbiano (Ostrosky *et al.*, 2008; Leonêz *et al.*, 2018).

Ensaio envolvendo a elucidação das atividades que produtos naturais contém sobre microrganismos têm sido cada vez mais incentivados. Principalmente decorrente do aumento da resistência bacteriana a antibióticos comumente utilizados – sendo considerada uma preocupação de saúde pública. Caracteriza-se por microrganismos que incidem e tornam ineficazes os medicamentos utilizados em seu tratamento. Esse processo de resistência antimicrobiana deve-se, majoritariamente, ao uso inadequado e indiscriminado de antibióticos (Coutinho *et al.*, 2004; Leandro *et al.*, 2013; Queiroz *et al.*, 2014; Angel; Valdes, 2017; CDC, 2019).

Os metabólitos secundários das plantas podem atuar como potencializadores da atividade antibacteriana, ao favorecer a ação de antibióticos cujo mecanismo apresenta níveis de resistência pelos microrganismos; ou ainda, como atenuantes de virulência, modulando a resposta imune do indivíduo ao processo infeccioso (Gonzalez-Lamonthe *et al.*, 2009).

Diferentes patógenos Gram positivos e Gram negativos estão relacionados a essa problemática. Resistência entre *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Pseudomonas aeruginosa* estão entre aquelas que os Centros de Controle de Doenças e a OMS consideram ameaças prioritárias (OMS, 2019).

S. aureus tem se destacado por sua capacidade de adquirir resistência a medicamentos e produzir diversos fatores de virulência que possibilitam sua sobrevivência em ambientes adversos (Pannu *et al.*, 2018).

2.6.1 *Staphylococcus aureus*

O gênero *Staphylococcus* compreende 38 espécies, entre elas o *S. aureus* que é a espécie mais virulenta e o patógeno mais importante para a saúde pública, principalmente no que tange a resistência antimicrobiana e infecções relacionadas a ambiente de assistência à saúde, sendo uma bactéria comumente encontrada na flora natural do ser humano em sítios, como: narinas, virilha, axila, orofaringe, períneo. Isso se dá, pelo fato de que o *S. aureus* apresenta grande plasticidade genômica, com ampla variabilidade molecular e grande quantidade de linhagens, conferindo grande capacidade adaptativa a essa espécie (Silva; Ribeiro; Barbosa, 2019).

S. aureus é uma bactéria comensal Gram-positiva, e é considerado um patógeno oportunista. Os principais locais de colonização são a pele e as mucosas e aproximadamente 30% da população adulta saudável é colonizada por *S. aureus*. Embora o *S. aureus* seja principalmente um micróbio comensal, tem o potencial de causar uma ampla gama de doenças que podem variar consideravelmente em gravidade. Os problemas mais comuns são infecções de pele, e alguns dos mais graves são infecções da corrente sanguínea, endocardite, osteomielite e fascíte necrosante (Lowy, 1998; Wertheim *et al.*, 2005; Jenul; Horswill, 2019).

Embora a maioria dos indivíduos colonizados com *S. aureus* não desenvolva uma infecção invasiva, o número total de indivíduos infectados

coloca o *S. aureus* como um dos principais patógenos causadores de infecções da corrente sanguínea (Kern; Rieg, 2019). Essas infecções são caracterizadas por altas taxas de mortalidade, apesar do tratamento adequado (de 20% a 50%, dependendo da gravidade da infecção), recorrências frequentes (5 a 10%) e comprometimentos duradouros em mais de um terço dos sobreviventes (Asgeirsson; Thalme; Weiland, 2018).

As infecções por *S. aureus* são particularmente problemáticas devido à ocorrência frequente de resistência a antibióticos em isolados de *S. aureus*, entre os quais MRSA são os mais importantes clinicamente (Turner, et al, 2019). As infecções por MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina) são acompanhadas por aumento de mortalidade, morbidade e internação hospitalar, em comparação com aquelas causadas por *S. aureus* sensível à meticilina (MSSA) (Ippolito *et al.*, 2010).

Outras infecções por *S. aureus*, como infecções de pele moderadamente graves, incluindo furúnculos, abscessos e infecções de feridas, geralmente não são fatais, mas podem ser acompanhadas por morbidade e dor significativas. Devido à sua frequência (vários milhões anualmente nos EUA), representam um fardo considerável para a saúde pública (McCaig *et al.*, 2006).

Frente a essa problemática, a busca por novos compostos com propriedades antimicrobianas que possam efetivamente combater os microrganismos resistentes aos fármacos disponíveis no mercado se intensifica, e as plantas emergem como uma fonte crucial de investigação nas pesquisas de prospecção (Piovesan, Viera; 2018; Donato *et al.*, 2020).

2.7 *Anacardium occidentale* L.

A família *Anacardiaceae* possui cerca de 77 gêneros e 700 espécies, distribuídas principalmente em áreas tropicais, subtropicais e temperadas. Dentre eles, o gênero *Anacardium* possui 20 espécies, amplamente distribuídas em áreas tropicais. No Brasil, existem cerca de 14 gêneros, e diversas espécies cultivadas sendo utilizadas para fins medicinais e nutracêuticos (Baptista *et al.*, 2018).

Anacardium cresce em solos pedregosos, arenosos, argilosos e pesados em altitudes de cerca de 600 m. Prefere solos bem drenados e não pode crescer em solos nutricionalmente pobres. Estas espécies apresentam um crescimento

fraco em solos pesados e encharcados de argila ou salinos. O gênero *Anacardium* cresce em pH variando de 4,5 a 6,5. As árvores crescem rapidamente com uma vida útil de 30 a 40 anos; no terceiro ou quarto ano começam a dar frutos. O sistema radicular de uma árvore madura consiste em uma raiz principal e uma extensa e bem desenvolvida rede de raízes laterais e chumbadas, depois de cultivadas a partir de sementes. A produção geralmente leva três anos após o plantio e oito anos antes que o rendimento econômico possa começar. No entanto, algumas espécies, como o cajueiro anão, iniciam a produção em apenas um ano e atingem a colheita econômica em três anos. A polinização das flores é feita por moscas, abelhas, formigas e vento. A planta é auto-fértil, prefere solo úmido, pode tolerar seca, vento forte, mas não exposição marítima (Adewale, 2013).

Anacardium occidentale L. (figura 2), pertencente à família *Anacardiaceae*, compreende uma árvore tropical frutífera, nativa do Brasil, sendo conhecida popularmente como cajueiro. Esta espécie vem sendo utilizada para reflorestamento, como planta ornamental e para o sombreamento (Lucena, 2006).



Figura 2. *Anacardium occidentale* L. (cajueiro): espécie arbórea.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Na prática popular, esta espécie vem sendo empregada por apresentar

diversas propriedades. Em geral, as folhas, a casca do caule, a castanha (fruto), o caju (pseudofruto) e a goma do cajueiro são utilizadas em decotos e infusos, especialmente a casca do caule e as folhas, para tratar diarreias, hemorragias, inflamações, acnes, diabetes, asma, dor de garganta, dor de dente, estomatites, entre outras (Aiswarya *et al.*, 2011a).

Estudos com *A. occidentale*, uma das plantas símbolo da caatinga, tem mostrado que seu extrato é eficiente contra muitos microrganismos. As partes mais estudadas são a casca, as folhas, as flores, a amêndoa do fruto (castanha), a casca da castanha (fruto) e a polpa do pseudofruto (Nunes *et al.*, 2022).

A. occidentale apresenta em sua composição vitaminas, taninos, sais minerais, ácidos orgânicos e carboidratos, constituindo-se como uma importante fonte nutricional. As folhas e cascas do cajueiro possuem esteróides, flavonoides, catequinas, fenóis, taninos, gomas, resinas, material corante, saponinas (Santos, 2011).

Estudos observaram que, usando o método de micro diluição, as diluições de extratos das folhas e cascas do caule de *A. occidentale* demonstraram atividade antibacteriana, e que as bactérias Gram-positivas mostraram serem mais sensíveis às concentrações das duas partes da planta pela técnica de difusão (Sá Junior *et al.*, 2016).

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo (Chun *et al.*, 2005).

Estudos mostram que várias partes de *A. occidentale* podem apresentar atividade frente a algumas bactérias. Melo *et al.*, (2006) avaliaram a ação do extrato da casca do caule de *A. occidentale* com três espécies de *Streptococcus* isoladas de biofilme dental, tendo demonstrado resultados significativos. Dessa forma, podendo, o extrato, ser usado terapeuticamente na odontologia como agente antibacteriano.

Gonçalves *et al.* (2005), que avaliaram a atividade antibacteriana com extrato da castanha do caju, frente a 10 linhagens de bactérias em que 4 (*Proteus mirabilis*, *Shigella sonnei*, *S. aureus* e *Staphylococcus* spp. Coagulase-) foram sensíveis ao extrato, e as demais (*Escherichia coli*, *Enterobacter*

aerogenes, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Providencia* spp., *P. aeruginosa*) se apresentaram resistentes ao extrato estudado.

Kubo (1994) em sua pesquisa por agentes antimicrobianos extraídos de plantas, realizou estudo sobre ácidos anacárdicos isolados do caju, com potencial para eliminar microrganismos como o *Cutibacterium acnes*.

Estudos realizados por Santos (2011) indicam que os extratos das folhas e cascas do caule apresentaram atividade antibacteriana, porém as cascas apresentaram os maiores halos de inibição na maioria das concentrações e linhagens e, que a bactéria Gram-positiva *Bacillus cereus* mostrou ser mais sensível às concentrações das duas partes da planta pela técnica de difusão. Além disso, o extrato das cascas do caule do cajueiro exibe forte ação antioxidante, quando *in vitro*, analisado pelo método de sequestro do radical DPPH.

Importante relatar que as cascas de *A. occidentale* encontram-se no Formulário Nacional de Fitoterápicos, indicadas para aliviar sintomas de diarreia leve não infecciosa (Brasil, 2021). No entanto, suas folhas ainda não estão entre as partes da planta validadas para uso medicinal, além da ausência de monografias farmacopeicas que reforcem suas propriedades, revelando a importância de seu estudo.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar estudo de validação das folhas de *A. occidentale* L. a partir da determinação de parâmetros de autenticidade e da investigação do potencial antimicrobiano e da segurança do uso dessa espécie.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar parâmetros morfo-anatômicos que contribuam com avaliação da qualidade (autenticidade) dessa espécie vegetal;
- Desenvolver estudo que favoreça a identificação da composição química das folhas de *Anacardium occidentale* L.;
- Avaliar o potencial antimicrobiano dessa matéria-prima vegetal frente *S. aureus*;

- Realizar ensaio de toxicidade *in vitro* e *in vivo*, em modelo alternativo, do extrato das folhas de *A. occidentale* L.
- Contribuir para a pesquisa e desenvolvimento de novos agentes antibacterianos a base de *A. occidentale* L.

4 METODOLOGIA



Figura 3. Fluxograma das etapas empregadas na pesquisa para identificação e análise de potencial terapêutico de *Anacardium occidentale* L. **Fonte:** Amaral *et al* (2021); Gondim (2023), adaptado por Sá (2024) criado com BioRender.

REFERÊNCIAS

- ABDALA, S. et al. Diuretic activity of some *Smilax canariensis* fractions. **Journal of ethnopharmacology**, v. 140, n. 2, p. 277-281, 2012.
- 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.
- ADEWALE, B. D. et al. Genetic estimates and trend analysis of some growth parameters of cashew (*Anacardium occidentale* L.) as influenced by nine nutrient combinations. **Journal of Agricultural Biotechnology and Sustainable Development**, v. 5, n. 1, p. 6, 2013.
- AISWARYA, G. et al. Study for anthelmintic activity of cashew apple (*Anacardium occidentale*) extract. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 6, n. 1, p. 44-47, 2011.
- ALBUQUERQUE, U. P. et al. Are ethnopharmacological surveys useful for the Discovery and development of drugs from medicinal plants. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p.110-115, 2014.
- ANDRADE, L. N. et al. Contribuição dos produtos naturais para o desenvolvimento de tratamentos para o câncer. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-SERGIPE**, v. 5, n. 2, p. 119-119, 2018.
- AMARAL et al. 2021. Estudo de validação de espécies vegetais: o elo entre o saber popular e o fitoterápico. In: AMARAL, F. M. M. et al. *In:Trajetória e pesquisa nas ciências farmacêuticas*. 1 ed. Ponta Grossa: Atena Editora, v. 1, p. 33 - 54, 2021.
- AMORIM, C. R. L. **Aspectos ambientais e sociais quanto ao uso de antissépticos naturais em tetos de cabras leiteiras em um assentamento no município de Mossoró-RN**. 2013. 89f. Dissertação (Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade) – Universidade Federal Rural do SemiÁrido, Mossoró, 2013.
- ÁNGEL, M. VALDÉS, S. A resistência microbiana no contexto atual e a importância do conhecimento e aplicação na política antimicrobiana. **Revista Habanera de Ciências Médicas**; v.16, n.3, p.402-419, 2017.
- ARIAS, T. D. **Glosario de medicamentos**: desarrollo, evaluación y uso. Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud (OPS), c1999. 333 p. ISBN 92 75 32305 4.
- ASGEIRSSON, H.; THALME, A.; WEILAND, O. *Staphylococcus aureus* bacteraemia and endocarditis—epidemiology and outcome: a review. **Infectious Diseases**, v. 50, n. 3, p. 175-192, 2018.

ATANASOV, A. G. et al. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. **Biotechnology advances**, v. 33, n. 8, p. 1582-1614, 2015.

BALBINO, E. E.; DIAS, M. F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 992-1000, 2010.

BAPTISTA, A.; GONÇALVES, R. V.; BRESSAN, J.; PELUZIO, M. 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. **Oxid. Med. Cell Longev.** v. 2018, n. 3753562, p. 1-13, 2018.

BENNETT, B. C.; BALICK, M. J. Does the name really matter? The importance of botanical nomenclature and plant taxonomy in biomedical research, **Journal of ethnopharmacology**, v. 152, n. 3, p.387-392, 2014.

BESSA, N. G. F. de et al. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde -Tocantins. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 15, n. 4, p. 692-707, 2013.

BRANDÃO, Maria das Graças Lins (ed.). **Plantas medicinais e Fitoterápicos**. Minas Gerais: DataplaMT, 2009.

BRANDÃO, M. G. Importância dos registros históricos na investigação e utilização de produtos naturais. Simões, **Research Society and Development**, v. 10, n. 10, p. 29-38, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira: Plantas Medicinais**. 6 ed. Brasília, DF, 2019. 745 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 10, de 09 de março de 2010, dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 09 de mar. 2010b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC Nº 14, de 31 de março de 2010, dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de mar. 2010a.

BRITO, A. E. de O.; SILVA, C. S. M. da. Antimicrobial activity of plant extracts of spices from northern Brazil. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 2, p. e52011226047, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**. 6.ed. Brasília, DF: Anvisa, 2019.

BRUSOTTI, G. et al. Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 87, p.218-228, 2014.

CALVO; C. et al. Medicinal plants used for cardiovascular diseases in Navarra and their validation from Official sources. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 157, n. 18, p. 268-273, 2014.

CAMPOS, S. C. et al. Toxicidade de espécies vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n. 1, p. 373-382; 2016.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F. et al. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Rev.Bras.Pl.Med.**, São Paulo, v.7, n.3, p.97-106, 2005.

CARNEIRO, F. M. et al. Tendências dos Estudos com Plantas Mediciniais no Brasil. **Revista Sapiência: sociedades, saberes e práticas educacionais**, v.3, n.2, p.44-75, 2014.

Carvalho, A. et. al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. Amazonas. FUCAPI. **Revista T&C Amazônia**, v.11, n. 11, p.26-32, 2007.

CARVALHO, L. M. **Orientações técnicas para o cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Sergipe: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2015.

CENTROS DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS.Georgia: Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos EUA, 2019.

CHUN, S. S.; VATTEM, D. A.; LIN, Y. T.; SHETTY, K. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 809-816, 2005.

COS, P., VLIETINCK, A. J., VANDEN, B. D., MAES, L. Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro “proof-of-concept”. **Journal of Ethnopharmacology**, v.106, n.3, p.290-302, 2006.

COSTA, J. F. O. et al.Immunomodulatory and antibacterial activities of extracts from Rutaceae species. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 4, p. 502-505, 2010.

COSTA, T. N. **Avaliação da toxicidade aguda e subcrônica do *Aspidosperma subincanum* (Apocynaceae) em camundongos**. 2013. 68 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2013.

COUTINHO, H. D. M. et al. Atividade antimicrobiana de produtos naturais. **Conceitos**, v. 18, n. 2, p.77- 85, Abr./Jun, 2008.

DONATO, M. F.; LUNA, C.; PESSOA, H.; DINIZ, M. **Bioprospecção e inovação tecnológica de produtos naturais e derivados de plantas e animais**. 1. ed. João Pessoa: UFPB, 2020.

ELISABETSKY, E.; SOUZA, G. C. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. *In*: SIMÕES, C. O. M. SCHENKEL, E, P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Florianópolis: UFRGS, 2010. p. 107- 122.

FAVERO, K. **Biologia e técnicas de criação de *Trichospilus diatraeae* (Hymenoptera: Eulophidae) em pupas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) e *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) — Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2009.

FERREIRA, S. A. L.; SANTOS BATISTA, C. A. dos; PASA, M. C. Uso de plantas medicinais na comunidade quilombola Mata Cavalo em Nossa Senhora do Livramento. **Biodiversidade**, Mato Grossov. 14, n. 1, 2015.

FINKE, M. D. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. **Zoo Biology**, v. 21, n. 3, p. 269–285, 2002.

FRANCO, D. C. G. **Platonia insignis Mart**: caracterização química e efeito antimicrobiano em bactérias causadoras da sepse. 2022. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Maranhão. 2022.

FRASSON, A. P. Z.; BITTENCOURT, C. F.; , B.M. Caracterização físico-química e biológica do caule de *Caesalpinia ferrea* Mart. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 1, p.35-39, 2003.

GERTSCH, J. . How scientific is the science in ethnopharmacology? Historical perspectives and epistemological problems. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 122, n. 2, p.177-183, 2009.

GHANTE, M. H.; JAMKHANDE, P. G. Role of pentacyclic triterpenoids in chemoprevention and anticancer treatment: an overview on targets and underling mechanisms. **Journal of Pharmacopuncture**, v. 22, n. 2, p. 55-67, 2019.

GODINHO, J. W. L. S. **Atenção Farmacêutica em Fitoterapia**: avaliação da comercialização e controle de qualidade de amostras de *Passiflora edulis* Sims. adquiridas em farmácias e drogarias no município de São Luís, estado do Maranhão. Trabalho de Conclusão de Curso (Monografia em Farmácia-Bioquímica) -Universidade Federal do Maranhão, 2014.

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, n.3, p.353-358, 2005.

GONÇALVES, 2016. Gonçalves, M. C. **Farmacovigilância em Fitoterapia: comércio e controle de qualidade de produtos vegetais adquiridos em estabelecimentos farmacêuticos no município de São Luís, estado do Maranhão.** São Luís, 118 p. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão, 2016.

GONZÁLEZ-LAMOTHE, R. et al. Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 8, p. 3400-19, 2009.

GROMEK K, DRUMOND N, SIMAS P. Pharmacovigilance of herbal medicines. **International Journal of Risk & Safety in Medicine**, v. 27, n. 2, p. 55-65, 2015.

HANDA S. S. et al. **Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants.** International Centre for Science and High Technology. Itália, Trieste, 2008, p. 21-25.

HARIPRASAD, P.; RAMAKRISHNAN, N. Chromatographic finger print analysis of *Rumex vesicarius* L. by HPTLC technique. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 1, p. 57-63, jan. 2012.

HARVEY, R. A. et al. Enveloped DNA Viruses. *In*: CORNELISSEN, C. N. et al. **Lippincott's Illustrated Reviews: microbiology.** 3. ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. Cap. 25. p. 255-272.

HU, M. et. al. Optimal Extraction Study of Gastrodin-Type Components from *Gastrodia Elata* Tubers by Response Surface Design with Integrated Phytochemical and Bioactivity Evaluation. **Molecules**, v. 24, n. 3, p. 547, 2019.

IPPOLITO, G.; LEONE, S; LAURIA F. N. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the superbug. **Int. J. Infect. Dis.** v. 14, n. 4, p.7-11, 2010.

JENUL, C.; HORSWILL, A. R. Regulation of *Staphylococcus aureus* Virulence. **Microbiol Spectr.** v. 7, n. 2, 2004. Doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0031-2018.

KERN, W. V.; RIEG, S. Burden of bacterial bloodstream infection-a brief update on epidemiology and significance of multidrug-resistant pathogens. **Clin Microbiol Infect.**, v. 26, n. 2, p. 151-157, 2019.

KUBO, I., MUROI, H., KUBO, A. Naturally occurring antiacne agents. **Journal of Natural Products**, v. 57, n. 1, p. 9-17, 1994.

KUNLE, O. F.; EGHAREVBA, H. O.; AHMADU, P. O. Standardization of herbal medicines - a review. **International Journal of Biodiversity and Conservation**, v. 4, n. 3, p.101-112, 2012.

LAVINE, D.; STRAND, M. R. Insect hemocytes and their role in immunity. **Insect Biochemistry Molecular Biology**. v. 32, n. 10, p.1295-1309, 2002.

LAZZAROTTO-FIGUEIRÓA, J. et al. Antioxidant activity, antibacterial and inhibitory effect of intestinal disaccharidases of extracts obtained from *Eugenia uniflora* L. Seeds. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 2, p. 291-300, 2021.

LEANDRO, L. M. G. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória de extratos metanólico e hexânico das casca de *Sideroxylon obtusifolium*. **E-Ciência**, v.1, n.1, 2013.

LEONEZ, C. F. et al. Efficacy of the decoction of cashew leaf (*Spondias mombin* L.) as a natural antiseptic in dairy goat matrices. **African Journal of Agricultural Research**, v. 13, n. 13, p. 644-649, mar. 2018.

LIMA, M. J. S. et al. Characterization of the libidibia ferrea dry extract for antihyperglycemic therapy. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n.12, p. 97488- 97506, dec. 2020.

LOWY, F. D. *Staphylococcus aureus* infections. **N. Engl. J. Med.**, v. 339, p.520-532, 1998.

LUCENA, V. M. X. **Diversidade genética entre genótipos de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e qualidade do fruto e pseudofruto**. 2006. 9 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2006.

LUNA, J. S. et al. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2 p. 199-206, 2005.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Plantas Medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MARIBONDO, C. A. B. **Estudo de validação de espécies vegetais da flora maranhense como alternativa e/ou complemento terapêutico na perda de peso**. 2021. 298 f. Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Maranhão. Estudo de validação de espécies vegetais da flora maranhense como alternativa e/ou complemento terapêutico na perda de peso, São Luís, 2021.

MCCAIG, L. F et al. *Staphylococcus aureus* associated skin and soft tissue infections in ambulatory care. **Emerg Infect Dis.**, v. 12, n. 11, p.1715–1723, 2006.

MEDEIROS, A. J. D. et al. O uso da planta *Spondias mombin* L. como uma tecnologia alternativa para o desenvolvimento da caprinocultura. In: BARBOSA, F. C. (org.). **Ciências Agrárias: a multidisciplinaridade dos recursos naturais**. 1. ed. Goiás: Conhecimento Livre, 2020, v. 1, p. 68-99.

MELO, A. F. M. et al. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p.202-205, 2006.

MENDES, M; SOUZA, C. Aplicação de modelos animais na pesquisa biomédica experimental. **Revista de Saúde da Fiaciplac**. Brasília,DF, v. 4, n. 2, 2017.

MENEZES, C. W. et al. A dieta alimentar da presa *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) pode afetar o desenvolvimento do predador *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Arquivo Instituto Biológico**, v. 81, n. 3, p. 250-256, 2014.

MILANÓVIC, V. et al. Exploitation of *Tenebrio molitor* larvae as biological factories for human probiotics, na exploratory study. **Journal of Functional Foods**. v. 82, p.1-9, 2021.

MORAIS, S. A. Otimização do processo de extração de taninos a partir da espécie *Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poiret. 2019. 98 p. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia), Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2019. 98 p.

MUSSIN, J.; GIUSIANO, G. **Ethno–phytopharmacology: product validation process based on traditional knowledge of medicinal plants**. Agricultural, forestry and bioindustry biotechnology and biodiscovery, 2020, p. 331-353.

NCUBE, N. S. et al. Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: Current methods and future trends. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 12, 1797-1806.

NESPOLI, G. et al. Educação popular e plantas medicinais na atenção básica à saúde. Rio de Janeiro: EPSJV, 2021. 192 p.

NEWMAN; C. et al. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **J. Nat. Prod.**, v. 83, n. 3, 770-803, 2020.

NICOLETTI, M. A. et al. Pharmacovigilance of herbal drugs and their derivatives: the beginning of necessary action for patient safety in the context of rational use of drugs. **Revista Visa em Debate**, v. 3, n. 2, 136-143, 2015.

NUNES, M. R. et al. Evaluation of the antibacterial activity of cashew seed pellicle (*Anacardium occidentale* L.). Research, **Society and Development**, v. 11, n. 8, p. e27611821716, 2022.

OLIVEIRA, F. C. et al. Avanços nas pesquisas etnobotânicas no Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 2, p. 590-605, 2009.

OLIVEIRA, D. R.; LEITÃO, G. G.; FERNANDES, P. D.; LEITÃO, S. G. Ethnopharmacological studies of *Lippia origanoides*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n. 2, p. 206-214, 2014.

OLIVEIRA, A. C. D. S. et al. Espécies vegetais de uso popular no tratamento da dor: uma revisão sistemática. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e22511225608-e22511225608, 2022.

OLIVEIRA, A. S. **Atividade Anti-Candida de *Anacardium occidentale* L. in vitro e in vivo**. 2022. 104f. Tese (Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/ CCBS) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2022.

OLIVEIRA, V. B.; MEZZOMO, T. R.; MORAES, E. F. de. Conhecimento e Uso de Plantas Medicinais por Usuários de Unidades Básicas de Saúde na Região de Colombo, Paraná. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 22, n. 1, p. 57- 64, 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). **Novo relatório apela a medidas urgentes para evitar a crise de resistência antimicrobiana**: as organizações internacionais unem-se em recomendações críticas para combater infecções resistentes aos medicamentos e prevenir um número surpreendente de mortes todos os anos. [Genebra], Organização Mundial de Saúde, 2019.

OOTANI, M. A. et al. Use of Essential Oils in Agriculture. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, p.162-174, 2013.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para a avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, abr./jun. 2008

PANNU, M. K; HUDMAN, D. A.SARGENTINI, N. J., SINGH, V. K. Role of SigB and staphyloxanthin in radiation survival of *Staphylococcus aureus*. **Curr Microbiol.**, v. 76, n. 1, p. 70-77, 2018.

PENHA, D. **Etnoconhecimento e o uso de plantas medicinais por moradores do povoado Santa Rosa em São Bento-MA**. 2021.94 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Naturais-Biologia) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2021.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M., OHARA, M. T. **Controle Microbiológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos de Cosméticos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003. 325 p.

PIOVESAN, V. **Produção e Controle de Produtos Naturais**. Paraná: Atena, 2018.

RANGEL, M.; BRAGANÇA, F. C. R. Representações de gestantes sobre o uso de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.11, n.1, p.100-109, 2009.

QUEIROGA, G. M. T. **Plantas medicinais e fitoterápicos como alternativa terapêutica às infecções urinárias**: um diagnóstico dessa realidade na saúde pública de Mossoró. 2015. 120f. Dissertação (Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Rio Grande do Norte, 2015.

QUEIROZ, M. R. A. et al. Avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia origanoides* frente à *Staphylococcus* sp. isolados de alimentos de origem animal. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.16, n.3, p.737-743, 2014.

ROGERO, S. et al. Teste in vitro de citotoxicidade: Estudo comparativo entre duas metodologias. **Materials research**, v. 6, n. 3, p. 317-320, 2003.

SÁ JUNIOR, P. F. de; MUNIZ, E. B., PEREIRA, N. A.; Oliveira, M. A. S. Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos aquosos, hidroalcoólicos e alcoólicos de espécies da família *Anacardiaceae*. **Revista De Ciências Médicas e Biológicas**, v. 15, n. 1, p.56-61, 2016.

SALES, M. D. C.; SARTOR E. B; GENTILLI, R. M. L. Etnobotânica e etnofarmacologia: medicina tradicional e bioprospecção de fitoterápicos. **Journal of Health Sciences**, v. 1, n. 1, p. 17-26, 2015.

SANTI, I. I. et al. Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Oil and Plant Extract *Myrcarpus frondosus* Allemão. **American Journal of Plant Sciences**, v. 8, n. 07, p. 1560, 2017.

SANTOS, A. P.; ROGERO, M. M.; BASTOS, D. H. Edible plants, their secondary metabolites and antiobesogenic potential. **Recent Pat Food Nutr. Agric.**, v.2, n. 3, p.195-212, 2010.

SANTOS, F. O. **Atividades biológicas do *Anacardium occidentale* (Linn)**.2011. 57 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-árido) – Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2011.

SANTOS, C. S.; FEIJÓ, F. M. C.; ALVES, N. D.; HOLANDA, J. R. C.; RODRIGUES, G. S. O. **Métodos de Extração para produção de fitoterápicos. Fitoterapia em animais de produção e de companhia**. v. 124, n. 1, p.16-25, 2023.

SILVA, R. P. D. et al. Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. **PLoS ONE**, v. 12, n. 3, p. e0172585, 2017.

SILVA, J. B.; RIBEIRO, M. L. C.; BARBOZA, C. M. S. Epidemiologia molecular de MRSA no Brasil. **Revista Transformar**, v. 14, n. 1, p. 588-606, 2020.

SILVA, K. C. da et al. Technological mapping of the species *Anacardium occidentale*: Prospective analysis in Brazil and in the world. Research, **Society and Development**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. e47511427669, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i4.27669.

SILVEIRA, P. F.; BANDEIRA, M. A. M.; ARRAIS, P. S. D. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p. 618-626, Out./Dez. 2008.

SIMÕES, C. O. M. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Ed.UFSC, 2010, 1104 p.

SIMÕES, C. O. M.; SCHENKEL, E. P.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SINGULANI, J. **Pesquisa de novas terapias e de biomarcadores na paracoccidiodomicose**: estudo da atividade antifúngica e toxicidade de galatos de alquila em modelos alternativos e camundongos e identificação de miRNAs circulantes. 2027. 152 f. (Tese de Doutorado em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2017.

SOARES, L. A. L.; FARIAS, M. R. Qualidade de insumos farmacêuticos ativos de origem natural. *In*: SIMÕES COM, SCHENKEL EP, MELLO JCP, MENTZ LA, PETROVICK PR. **Farmacognosia**: do produto natural ao medicamento. Porto Alegre: Artmed, 2017. p.83-105.

SOUZA, C. R. F. **Produção de extratos secos padronizados de plantas medicinais brasileiras: estudo da viabilidade técnica e econômica do processo em leito de jorro**. 2007. 219 p. (Tese de Doutorado) - Universidade de São Paulo (USP). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (PCARP/BC), São Paulo, 2007.

SUCHER, N. J.; CARLES, M. C. Genome-Based Approaches to the Authentication of Medicinal Plants. **Planta Medica**, v. 74, n. 6, p. 603-623, 2008.

TOMASI, M. L. M. **Aspectos relacionados ao desenvolvimento de um medicamento fitoterápico: preparação e avaliação biológica de extrato seco padronizado de erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. 2021. 60f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação). Universidade Federal de Santa Catarina, Farmácia, Florianópolis, 2021.

TIWARI, P. et al. Phytochemical screening and extraction: a review. **Internationale Pharmaceutica Scientia**, v. 1, n.1, p. 98-106, jan./mar. 2011.

TURNER, N. A.; SHARMA-KUINKEL B. K.; MASKARINEC, S. A. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. **Nat. Rev. Microbiol.**, v.17, n.4, p. 203–218, 2019.

VALERIANO, F. R. Uso de plantas medicinais na comunidade quilombola do Veloso, povoado de Pitangui–MG. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 12, p. 100701-100718, 2020.

VEIGA JÚNIOR, V. F. **Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro**: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 308-313, 2008.

VERDAM, M. C. S.; SILVA, C. B. O estudo de plantas medicinais e a correta identificação botânica. **Visão Acadêmica**, v. 11, n. 1, p. 7-13, 2010.

VOMMARO, M. L; KURTZ, J.; GIGLIO, A. Caracterização Morfológica de Hemócitos no Besouro Mealworm *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae). **Journal Insects.**, v.12, n.5, p. 1-18, 2021.

WERTHEIM, H. F. et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. **Lancet Infect Dis.**, v 5, n. 12, p. 751–762, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The importance of Pharmacovigilance:** safety monitoring of medicinal products, Geneva: WHO, 2002. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42493/a75646.pdf>. Acesso em: 30 set. 2024.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO traditional medicine strategy 2014–2023**. Honk Kong: [s. n.], 2013. ISBN: 9789241506090. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241506096>. Acesso em: 30 set. 2024.

CAPÍTULO 1

ESTUDO FARMACOGNÓSTICO DAS FOLHAS DE *Anacardium occidentale* L. DA AMAZÔNIA MARANHENSE

RESUMO

Anacardium occidentale L., conhecida popularmente como cajueiro, é uma espécie nativa do nordeste brasileiro, amplamente utilizada por suas propriedades farmacológicas, incluindo antioxidantes, anti-inflamatórias e antimicrobianas. No entanto, as folhas da planta ainda não estão incluídas entre as partes validadas para uso medicinal, e há escassez de estudos quanto a sua caracterização farmacopeica. Dessa forma, este estudo teve como objetivo determinar parâmetros de autenticidade e segurança das folhas de *Anacardium occidentale* L., contribuindo para o controle de qualidade dessa matéria-prima vegetal. A espécie coletada no bairro Itaqui-Bacanga em São Luís, Maranhão, nos meses de setembro e outubro de 2022, teve suas exsicatas identificadas no Herbário do Maranhão/UFMA, sob o número de voucher 13949. As folhas frescas foram submetidas a análises morfoanatômicas à vista desarmada e por secções paradérmicas e transversais, descoradas em hipoclorito de sódio 50%, e coradas em azul de astra e/ou fucsina. Após secagem e fragmentação, o material vegetal pulverizado foi descorado em hipoclorito de sódio 50% e corado em lugol. As matérias-primas íntegra e fragmentada foram analisadas em microscópio óptico. O extrato hidroalcólico foi analisado por cromatografia em camada delgada (CCD), com auxílio de placas de sílica e sistema de eluição. As folhas demonstraram ser íntegras e de coloração esverdeada, ovaladas e de base simétrica. Além disso, são hipoestomáticas, com estômatos paracíticos, mesófilo isofacial, nervura principal biconvexa e raros tricomas glandulares. O estudo químico sugere a presença de flavonoides e terpenos no extrato bruto hidroalcólico, tendo como melhor sistema de separação de bandas o acetato de etila/hexano (6:4). Este estudo contribui com as diretrizes de garantia de qualidade das folhas de *A. occidentale* L., sendo crucial para diferenciação de espécies e uso sustentável desse produto vegetal.

Palavras-chave: Autenticidade; cajueiro; estômatos paracíticos; Farmacognosia; folha; morfo anatomia vegetal.

INTRODUÇÃO

Anacardium occidentale L. é uma espécie vegetal nativa do nordeste brasileiro, pertencente à família Anacardiaceae, que corresponde a troncos de árvore perene, bem ramificados ou retorcidos curtos, com altura variando de 8 a 15 m, grande vão de copa hemisférica regular de até 20 m que podem às vezes chegar ao chão. Apresenta casca áspera, cinza, com borda rosada; ramificam mais ou menos pubescente, cinza a marrom (Baptista *et al.*, 2018; WAHO, 2020).

A crescente utilização de matérias-primas vegetais como uma alternativa aos medicamentos alopáticos tem sido observada em todas as esferas sociais de diferentes localidades no mundo. A OMS destaca que, apenas em 1980, este mercado de produtos naturais mobilizou cerca de 500 milhões de dólares (Bruning *et al.*, 2012). Esse interesse aumentado é impulsionado por diversos fatores, como a biodiversidade, a procura por qualidade de vida superior, custo elevado de medicamentos convencionais e o desenvolvimento de produtos fitoterápicos mais eficazes e seguros (Lorenzi & Matos, 2008; Bruning *et al.*, 2012).

A ausência de parâmetros de qualidade bem delimitados para as matérias-primas vegetais pode ter várias consequências para a saúde do usuário. A utilização de plantas sem análise rigorosa de suas propriedades fitoquímicas e botânicas, pode resultar em tratamentos ineficazes e toxicidade. Para garantir a eficácia farmacológica e a segurança no uso de plantas, é crucial que esse material vegetal seja submetido a estudos de validação (Brandão, 2009). Esses estudos se dedicam à análise científica de propriedades terapêuticas contidas em matérias-primas vegetais para atestar sua eficácia e segurança para o uso medicinal em seres vivos (Sales *et al.*, 2015; Simões *et al.*, 2017).

As características farmacobotânicas fornecem informações importantes para a diferenciação das espécies. Além de ser uma ferramenta fundamental utilizada na classificação e identificação de espécies de plantas (Bashir *et al.*, 2020). Considerando o potencial medicinal e terapêutico de *Anacardium occidentale* L., suas folhas e cascas do caule são direcionadas para o tratamento de inflamações, diarreias, acnes, diabetes, hemorragias, estomatites, dores de garganta e de dente, entre outros acometimentos (Aiswarya *et al.*, 2011).

Esta espécie, símbolo da Caatinga, mas também encontrada em outros

biomas como a Amazônia, teve seu extrato avaliado por Nunes *et al* (2022), o qual mostrou-se eficiente contra diversos microrganismos. Usualmente, na prática popular, as folhas, fruto e pseudofruto, casca do caule e goma da árvore são utilizadas em infusos e decotos.

Como no caso de *A. occidentale* L., é fundamental o comprometimento com a exploração sustentável e usufruto de material com garantia de qualidade, analisado pelo panorama de autenticidade, integridade e pureza (Carvalho, 2015). Os quais configuram procedimentos básicos para a validação de drogas vegetais, e permitem o desenvolvimento de metodologias e determinação de parâmetros para o controle de qualidade dessas espécies (Frasson *et al*, 2003).

Padrões que garantam a qualidade de drogas vegetais são baseados em dados farmacognósticos, parâmetros físico-químicos e fitoquímicos. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo determinar parâmetros de autenticidade e segurança das folhas de *Anacardium occidentale* L., contribuindo para o controle de qualidade dessa matéria-prima vegetal.

METODOLOGIA

Coleta e identificação Botânica

As folhas da espécie vegetal *A. occidentale* foram coletadas no bairro Itaqui-Bacanga nas imediações do Parque Estadual do Bacanga (2°.55'46", 44°.30'61"), em São Luís, Maranhão, nos meses de setembro e outubro de 2022, e suas exsiccatas foram identificadas no Herbário do Maranhão - MAR da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) sob o número de voucher 13949.

Material Vegetal

Para a obtenção do pó, as folhas de *A. occidentale* foram secas em temperatura ambiente durante uma semana e o material vegetal previamente triturado (300 g) em moinho de facas TE-651/2 (TECNAL) malha mesh 60 de 8mm, obtendo pó de granulometria grossa.

Análise morfo-anatômica

Para a descrição morfo-anatômica, utilizaram-se folhas adultas frescas coletadas entre o 3º ao 5º nó dos galhos da espécie. Para a descrição

macroscópica, as folhas foram analisadas a vista desarmada e com auxílio de estereomicroscópio, observando-se as seguintes características: filotaxia, composição, cor, tamanho, consistência, contorno, ápice, base, margem e nervação (Oliveira; Akisue; Akisue, 2014).

Para a análise anatômica, cortes paradérmicos e transversais foram realizados no terço inferior da lâmina foliar, com auxílio de lâminas de aço inoxidável. Os cortes obtidos foram tratados com solução de hipoclorito de sódio 50%, lavados em água destilada, corados com azul de astra e/ou fucsina, e montados entre lâmina e lamínula utilizando glicerina hidratada. Os cortes foram analisados e fotografados em microscópio óptico (Cortez, 2016).

O pó obtido das folhas foi tratado com solução de hipoclorito de sódio 50%, lavado em água destilada, corado com lugol, montado entre lâmina e lamínula. Então, foi analisado e fotografado em microscópio óptico (Cortez, 2016).

Preparação do extrato vegetal

O extrato bruto foi obtido a partir do material em pó com adição de 10 mL de etanol por 5 min em banho-maria a 60 °C, e em seguida filtrado. 20 µL foram utilizados para a cromatografia (Wagner; Bladt, 2009).

Cromatografia em camada delgada (CCD)

Na pesquisa foi realizada a cromatografia em camada delgada (CCD) do extrato obtido de *A. occidentale*. Foram utilizadas cromatofolhas de alumínio de camada 0,20 mm sílica gel 60, Xtra SIL G/UV254 20x20 cm (Merck - Germany). Três sistemas de solventes foram utilizados: Acetato de etila/Ácido fórmico (95:5), Acetato de etila/Hexano (60:40) e Diclorometano (100%). Foram preparados 10 mL de cada sistema de solvente para posterior eluição. Este ensaio serviu para escolher o sistema de solventes que separasse o maior número de compostos que pudessem ser visualizados em placa cromatográfica. Todas as placas cromatográficas foram observadas em câmara UV nos comprimentos de onda 254 nm e 365 nm (Wagner; Bladt, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos morfo-anatômicos são essenciais nos estudos de validação de

espécies vegetais pois fornecem parâmetros para sua identificação, possibilitando os testes de autenticidade na avaliação da qualidade do insumo ativo vegetal, garantindo que a espécie descrita em rótulos seja a mesma utilizada na produção de fitoterápicos (Oliveira; Akisue; Akisue, 2014; Brasil, 2023).

A identificação de plantas é realizada majoritariamente por sua caracterização botânica, e sua análise fitoquímica é um dado complementar. A análise microscópica é uma ferramenta assumidamente utilizada para avaliação de qualidade botânica e sua autenticação, uma vez que se trata de testes fáceis, objetivos e com baixo custo. Esta é a única opção para análise de materiais muito fragmentados ou na forma de pó (Upton *et al.*, 2011; Encarnação, 2022).

As folhas de *A. occidentale* L. são simples, apresentando-se inteiras e com aspecto íntegro. De consistência coriácea, coloração verde, sendo mais escura na face superior, e com face inferior mais clara e pecíolo curto e verde-claro. Contorno ovalado, ápice agudo e base simétrica (Figura 1). Margem inteira (lisa), inervação primária peninérvia, e secundária com padrão cladódroma, com ramificações à margem. Apresenta pecíolo reto lateral, nervura central plano-convexa a biconvexa.

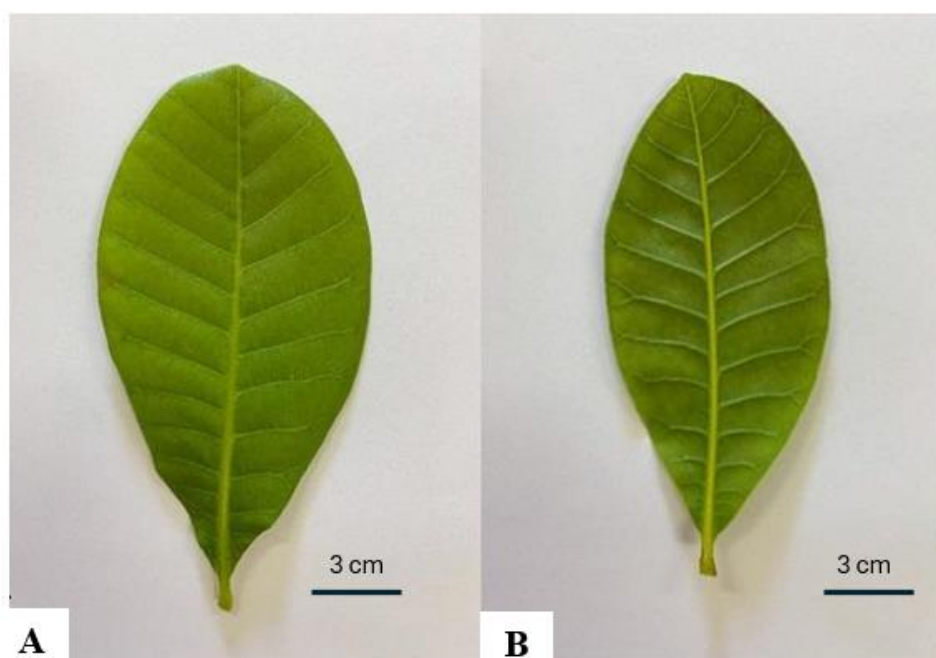


Figura 1. *Anacardium occidentale* L. A - Superfície adaxial da lâmina foliar. B - Superfície abaxial da lâmina foliar.

Fonte: Elaborado pela autora (2023).

Em vista frontal, as células epidérmicas apresentam paredes anticlinais

retas a levemente onduladas, sendo menores na face inferior. A folha apresenta estômatos do tipo paracítico, restritos à face abaxial, caracterizando-se como folha hipoestomática (Figura 2 A-B).

Ambos os lados adaxial e abaxial mostraram uma superfície cuticular estriada, mas apenas o segundo apresentou estômatos com cutícula estriada mais evidente próximo a eles. O padrão hipoestomático e as estrias ao redor dos estômatos são consistentes com a característica taxonômica desta espécie (Carpenter, 2005; Ramos *et al.*, 2016). De forma semelhante, Jaiswal (2012) descreveu estômatos do tipo paracíticos nas folhas de *A. occidentale* L., conectados às células subsidiárias irregulares devido à presença de uma cutícula estriada.

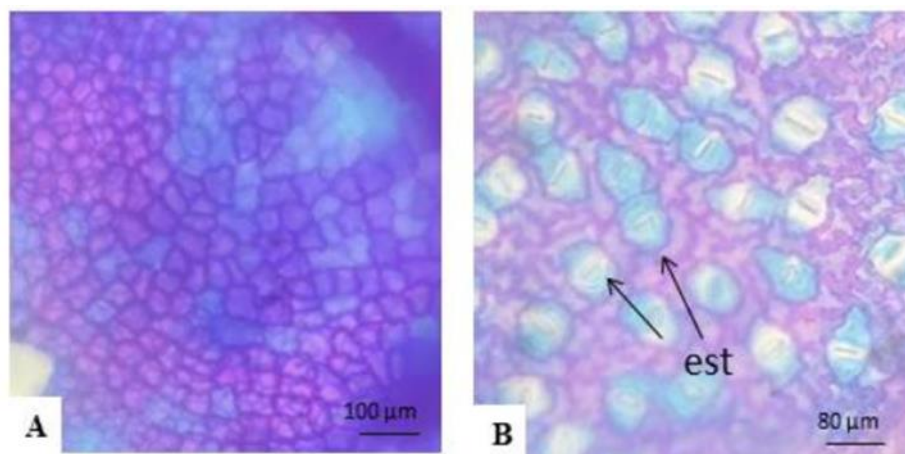


Figura 2. *Anacardium occidentale* L. secção paradérmica da folha. A – face adaxial. B – face abaxial. Legenda: est.= estômatos.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Para evitar conflitos taxonômicos, as características epidérmicas das folhas são essenciais (Bashir *et al.* 2020; El-Taher *et al.*, 2020) e, com base nessa afirmação, as imagens revelam configurações distintas nas superfícies superior e inferior da folha (Figura 3 A-D). Observaram-se folhas anfiestomáticas em amostras de *Anacardium excelsum* Skeels, com estômatos anomocíticos (Martínez-Millan; Cevallos-Ferriz, 2005). Enquanto que *Anacardium humile* apresenta epiderme unisseriada coberta por uma cutícula espessa, além de periderme incipiente (Royo *et al.*, 2015).

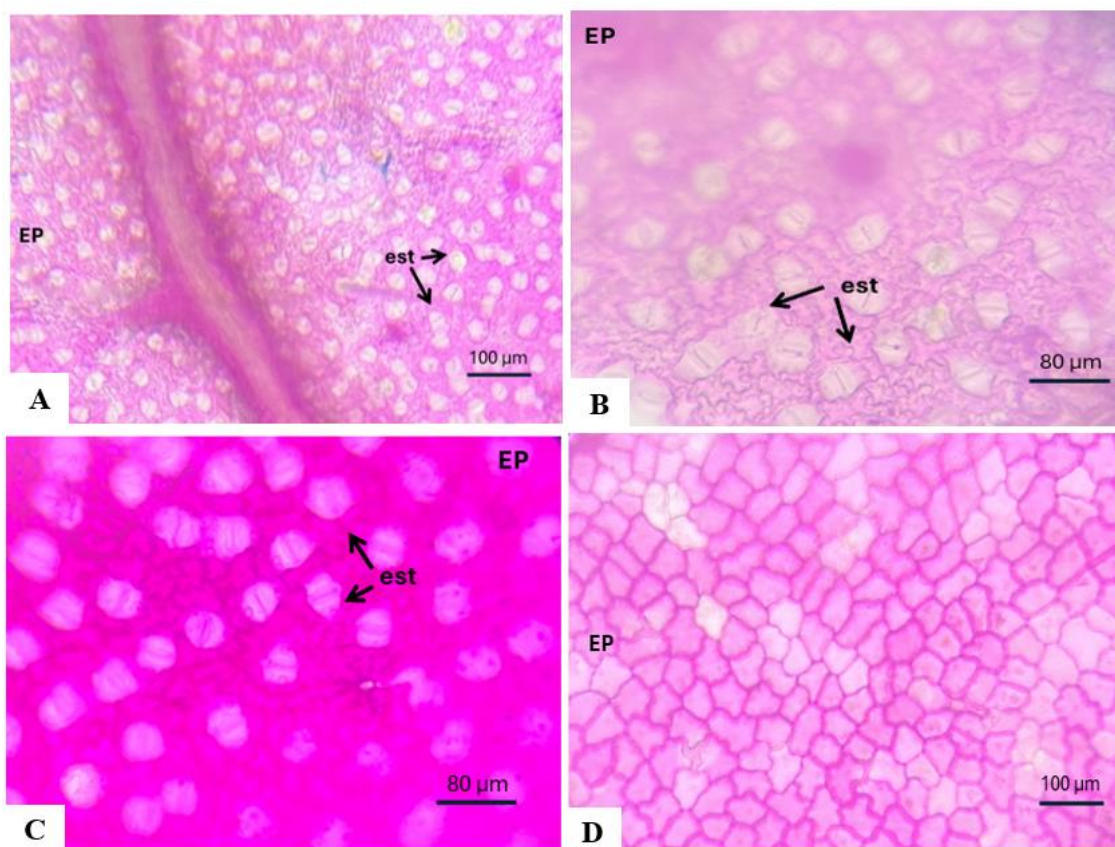


Figura 3. *Anacardium occidentale* L. secção paradérmica da folha. A, B e C – face abaxial. D – face adaxial. Legenda: EP: epiderme. est.= estômatos.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O mesofilo é isofacial, apresentando 3 camadas de tecido paliçádico na face superior e 2 camadas na inferior, sendo as células mais longas na face superior. O tecido esponjoso é estreito, apresentando feixes vasculares. São observadas drusas e grãos de amido. Observa-se cutícula espessa. Em estudos realizados com diferentes ecotipos da planta, *A. occidentale* L. apresenta, em média, uma a duas camadas celulares de parênquima paliçádico e três a cinco camadas de parênquima lacunoso (Mashimbye *et al.*, 2020; Balbino, Lima, Cury, 2024)

A nervura mediana é plano-convexa a biconvexa, com a convexidade superior bastante discreta. Nessa região, encontram-se de 4 a 6 feixes vasculares do tipo colateral, com formato de triângulo invertido. O floema voltado para o exterior forma um anel quase contínuo, onde observa-se ductos (Figura 4 A-E), e xilema voltado para o interior. Na parte central da nervura principal, apresenta uma medula composta por tecido parenquimático e pouco desenvolvida.

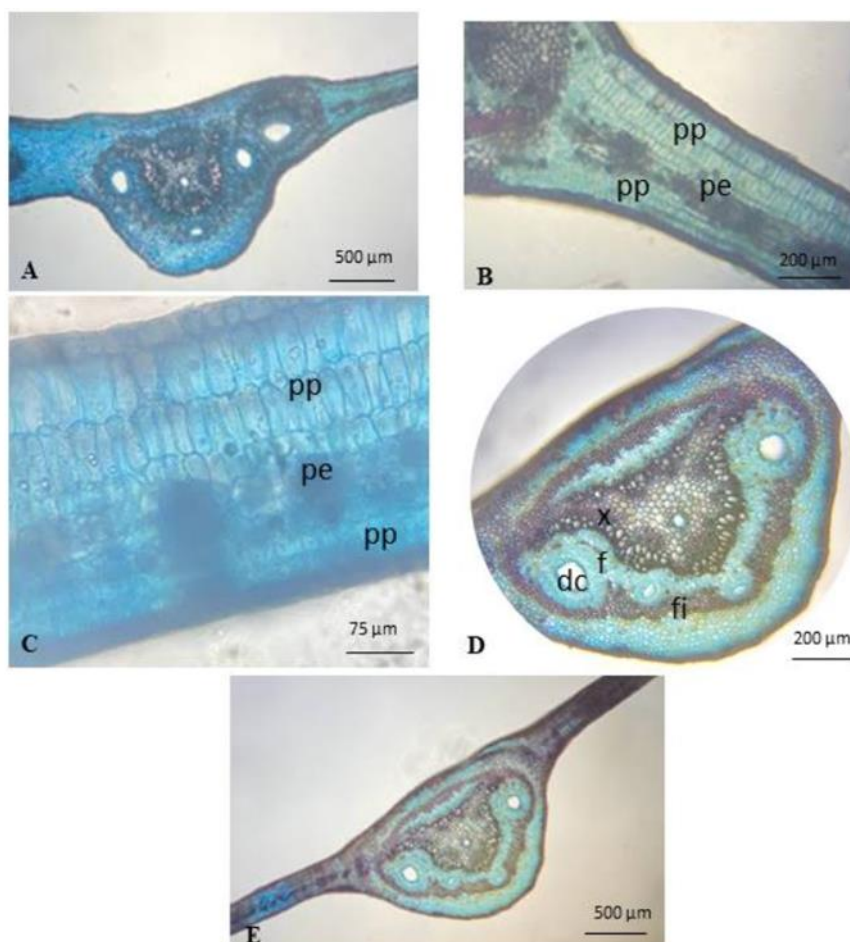


Figura 4. *Anacardium occidentale* L. secção transversal da lâmina foliar. A e E – Aspecto geral da nervura principal. B – Mesofilo isofacial. C - Detalhe do mesofilo. D – Aspecto geral da nervura principal evidenciando ductos no floema. Legenda: pp = parênquima paliçádico. pe = parênquima esponjoso. x = xilema. f = floema. dc = ductos. fi = fibras.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

As folhas de *A. occidentale* L. possuem feixes vasculares colaterais. Esses feixes apresentam os cordões de xilema e floema lado a lado, opostos um ao outro, podendo apresentar bainha de fibras esclerenquimáticas (Figura 4B e C).

Em estudo realizado por Moscon *et al.* (2020), na nervura central de espécies Anacardiaceae, ductos secretores ocorrem atreladas ao floema primário, e no parênquima central de *Anacardium giganteum* e *A. occidentale* consistentes com os achados nesse trabalho. Em *Tapirira obtusa* são ausentes no parênquima central, mas no mesofilo estão dispostos junto aos feixes vasculares em *A. occidentale* L., em *T. obtusa* e não estão presentes no mesofilo de *A. giganteum*. Em nosso estudo, esses ductos foram visualizados na nervura central junto ao floema, bem como, alguns na medula pouco desenvolvida.

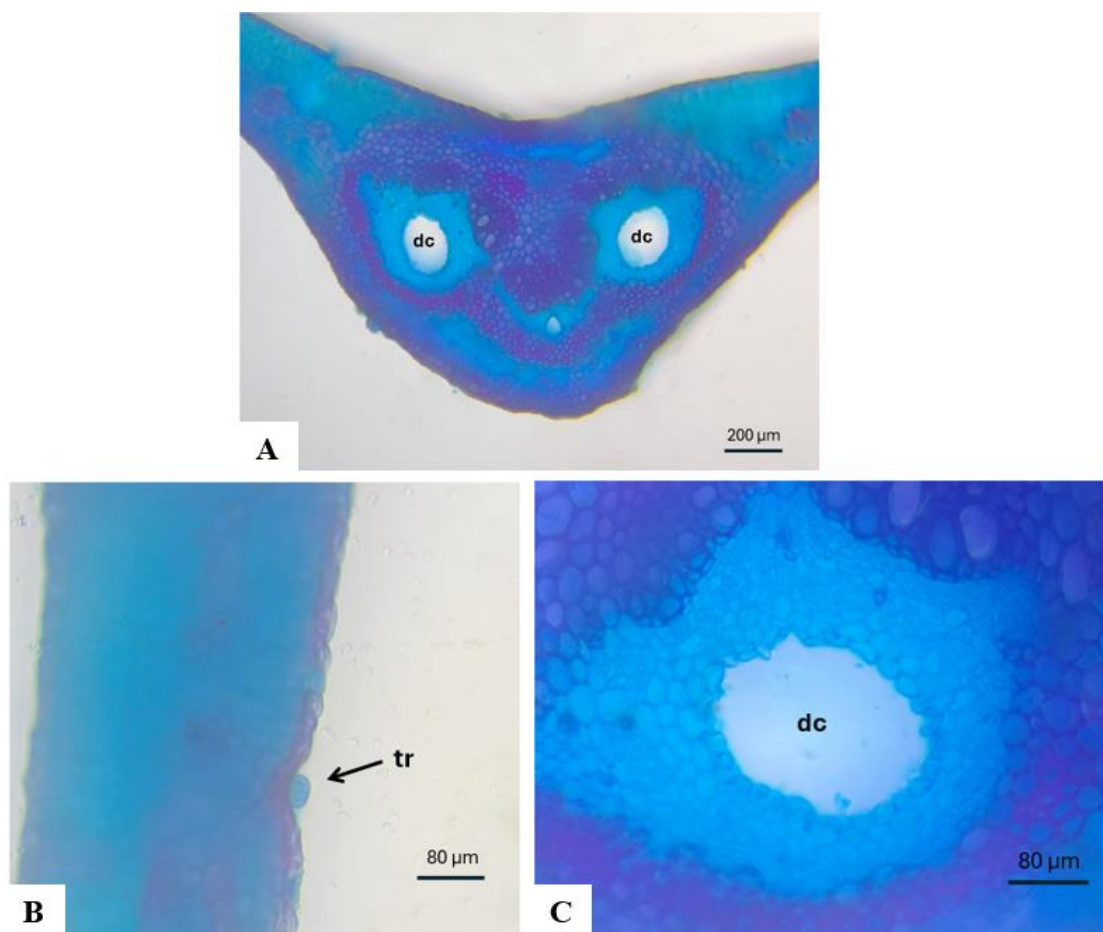


Figura 5. *Anacardium occidentale* L. seção transversal da lâmina foliar. A – Aspecto geral da nervura principal evidenciando cavidade. B – Superfície adaxial da epiderme evidenciando tricoma glandular. C - Detalhe do mesofilo evidenciando cavidade. Legenda: tr = tricoma glandular. dc = ductos.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Para *A. humile*, Royo *et al* (2015) descrevem uma medula bem desenvolvida, a qual não apresenta ductos. A presença de ductos ou cavidades secretoras nas folhas (Figura 5) é uma importante característica taxonômica para identificar certas famílias como Anacardiaceae, entre outras (Metcalf e Chalk, 2005). A ocorrência de tricomas na superfície foliar também pode atuar como estratégia adaptativa em *A. occidentale* L., já que podem desempenhar importante função contra a perda d'água, além de refletir o excesso de luz solar, permitindo à planta absorver somente a luminosidade necessária para as suas atividades vitais (Larcher, 2004). Neste estudo foi verificado apenas um corte de folhas com tricoma glandular, demonstrando que esta estrutura é rara para esta espécie nesse local de cultivo.

Belhadj (2007) realizou um estudo com folhas de *Pistacia atlantica*, da família Anacardiaceae coletadas de diferentes ambientes, e concluiu que a presença ou ausência, assim como a densidade de tricomas está diretamente relacionada com o tipo de ambiente e as condições climáticas que a planta se encontra.

Martínez-Millán e Cevallos-Ferriz (2005) descreveram os tricomas glandulares comuns à família Anacardiaceae como um pedúnculo, uni ou multicelular, além de uma cabeça cilíndrica, ovoide ou cônica, tipicamente multicelular e multisseriada.

A espécie *A. occidentale* L. se diferencia, anatomicamente, de outras espécies da família Anacardiaceae pela presença de drusas na nervura central, mostrando feixes vasculares colaterais. Apresenta células epidérmicas com paredes espessas e sinuosas na face adaxial, enquanto na face abaxial são observados estômatos paracíticos. Além da presença de tricomas glandulares nessa espécie vegetal.

Fatores fisiológicos críticos, tais como fotossíntese, comportamento estomatal, mobilização de reservas, expansão foliar e crescimento, podem ser alterados por estresse hídrico e, conseqüentemente, levar a alterações no metabolismo secundário. (Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

A temperatura do ar é, dentre os elementos climáticos, o que promove maiores efeitos diretos e significativos sobre muitos processos fisiológicos que ocorrem em plantas e animais (Medeiros *et al.*, 2005).

A presença de células especializadas, como os idioblastos, é frequentemente observada nas folhas e nas partes jovens da planta. Essas células são responsáveis pela síntese e armazenamento de metabólitos secundários, incluindo flavonoides e taninos. Estudos revelam que a densidade e a distribuição dessas células podem variar conforme as condições ambientais, influenciando diretamente a qualidade dos extratos obtidos (Santos; Furlan; Amorim, 2016).

Em regiões de alta umidade, as glândulas secretoras podem ser mais proeminentes, resultando em extratos com maior potencial farmacológico. A análise de amostras de diferentes ecótipos demonstra que as condições de cultivo e o manejo sustentável influenciam a concentração de compostos bioativos e, conseqüentemente, a eficácia dos produtos derivados (Santos;

Furlan; Amorim, 2016).

Quando a matéria-prima vegetal está na forma pulverizada, é necessária a análise microscópica desses pós para avaliação de suas características. Em relação às folhas de *A. occidentale* L., o pó apresenta fragmentos da epiderme com e sem estômatos, do tipo paracíticos (Figura 6B e C), além de mesofilo com células parênquimáticas. Grãos de amido foram identificados por reação histoquímica com lugol (Figura 6D). Também é possível observar a presença de drusas de oxalato de cálcio (Figura 6A).

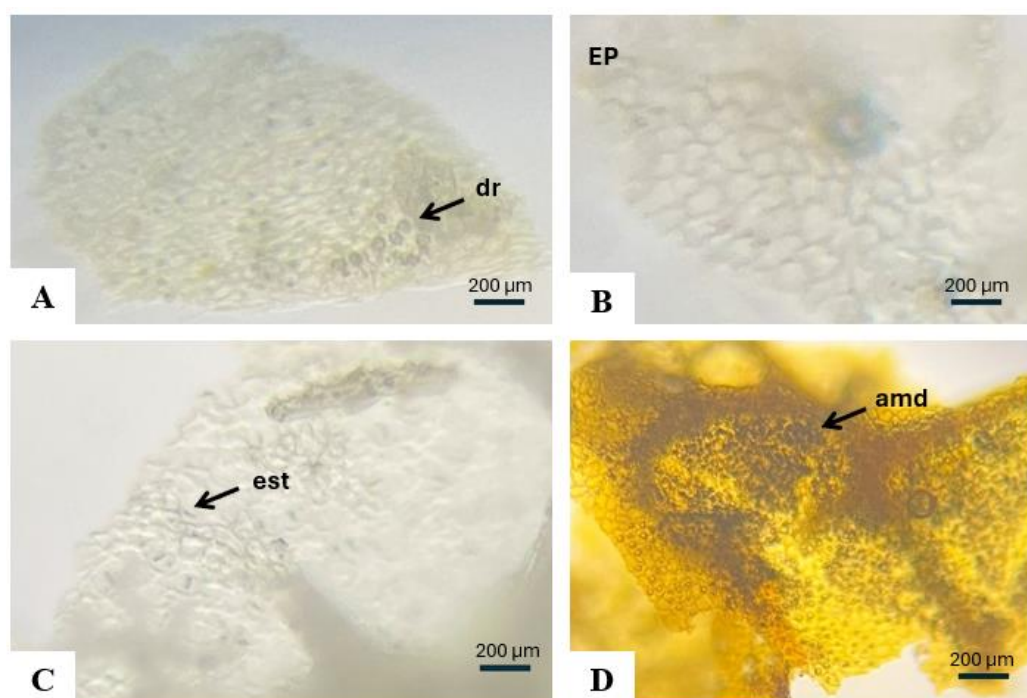


Figura 6. *Anacardium occidentale* L. Análise microscópica do pó. A – Fragmentos da epiderme evidenciando drusas. B – Fragmentos da epiderme em vista frontal. C – Fragmentos da epiderme em vista frontal com estômatos paracíticos. D – Fragmentos da epiderme evidenciando grãos de amido. Legenda: amd = grãos de amido. est = estômatos. dr = drusas.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O controle de qualidade é uma etapa na produção de fitoterápicos que envolve várias etapas, de modo que, a fonte e a qualidade das matérias-primas têm um papel central na obtenção de produtos com constância de composição e propriedades terapêuticas reprodutíveis, evitando a utilização de espécies equivocadas (Calixto, 2000; Gobbo-Neto; Lopes, 2007).

Além da análise morfo-anatômica da parte da planta empregada para determinação de autenticidade, outros testes podem ser utilizados. O perfil de metabólitos secundários é denominado *fingerprint*, e é um autêntico marcador

da complexidade biológica. Em sentido literal da palavra, é a impressão digital da espécie, que pode demonstrar seus vários compostos químicos (Nicoletti, 2011).

Três sistemas de solventes foram utilizados para realização da análise cromatográfica em camada delgada (CCD): Acetato de etila/Hexano (6:4), Diclorometano (100%) e Acetato de etila/Ácido Fórmico (95:5). Sendo analisados nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm.

O sistema de solventes Acetato de etila/Hexano (6:4) foi o que apresentou uma melhor visualização de bandas, sendo que no comprimento de onda de 254 nm foi melhor do que no comprimento de onda 365 nm (Figura 6 A-B). As substâncias presentes na placa foram excitadas pela radiação UV indicando a presença de grupos cromóforos, ou seja, grupos funcionais e/ou regiões com grande quantidade de elétrons (Islam *et al.*, 2021).

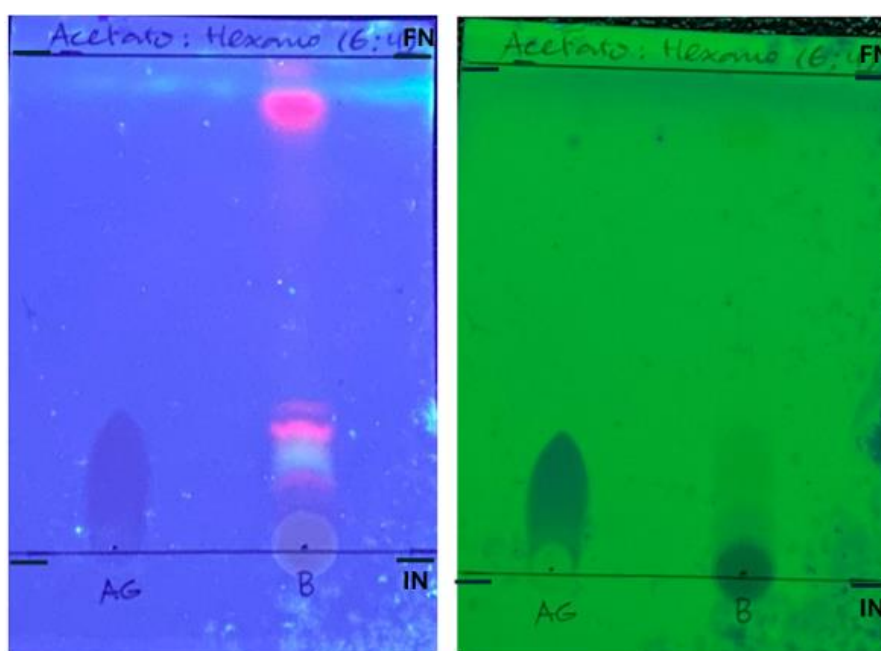


Figura 7. Placa cromatográfica contendo *fingerprint* do extrato bruto de *A. occidentale* L. (à direita) e o padrão de referência do ácido gálico (à esquerda). Fase Móvel: Acetato de etila/Hexano (6:4). A - Leitura em Câmara UV 254 nm. B- Leitura em Câmara UV 365 nm.

Legenda: IN = início da corrida. FN = fim da corrida.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Outros sistemas de solventes utilizados possibilitaram observar manchas com coloração fluorescente quando reveladas nos comprimentos de onda 254 e 365 nm. No ensaio realizado, foi identificado no extrato de folhas um composto

de absorção ultravioleta que se assemelha ao ácido gálico.

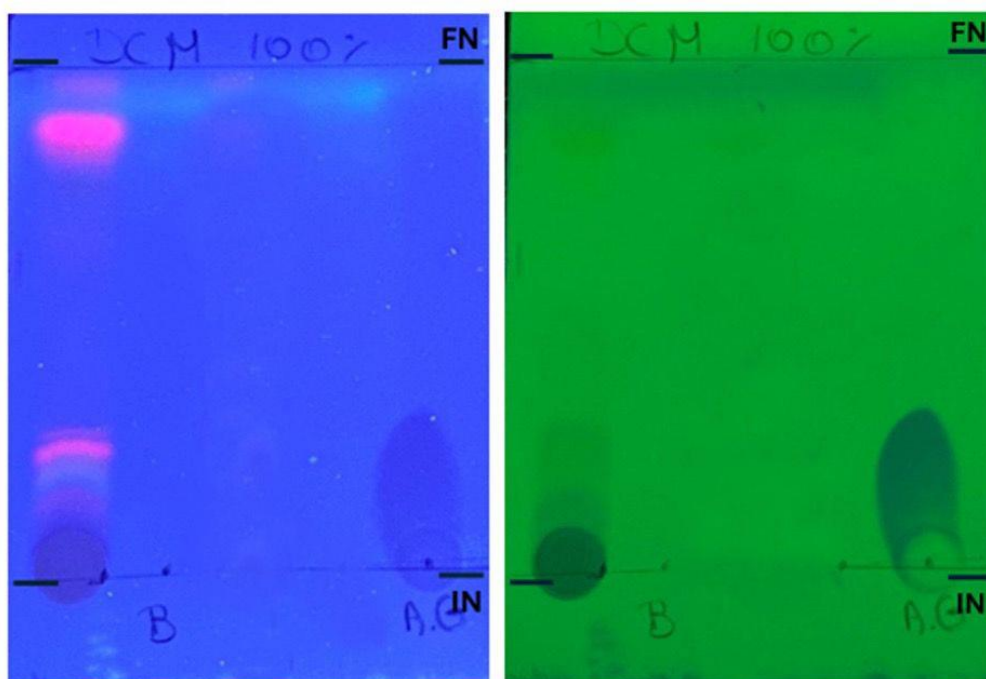


Figura 8. Placa cromatográfica contendo *fingerprint* do extrato bruto de *A. occidentale* L. (à esquerda) e o padrão de referência do ácido gálico (à direita). Fase Móvel: Diclorometano (100). A - Leitura em Câmara UV 254 nm. B- Leitura em Câmara UV 365 nm. Legenda: IN = início da corrida. FN = fim da corrida.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Em ambos os sistemas previamente apresentados (Diclorometano (100) e Acetato de etila/Hexano (6:4), as manchas, na CCD, exibiram tonalidades entre amarelo e verde, indicando a riqueza do extrato em flavanois e flavonas (Wagner; Bladt, 2009). Também pode ser observado indícios da presença de terpenos, com a formação de algumas bandas com coloração roxa e lilás no ápice das placas, indicando substâncias de menor polaridade e fator de retenção maior (Lapenn; Dinan, 2009).

Em relação a fase móvel, comumente chamada de sistema de solventes, seleciona-se por processo de tentativa e erro com base na própria experiência do analista, em dados da literatura e propriedades químicas dos analitos (Wagner; Bladt, 2009). Fases móveis com mais de 3 ou 4 componentes devem ser evitadas, pois a separação dos compostos pode ser prejudicada (Shinde *et al.*, 2011). Mesmo não sendo o caso apresentado, pode-se perceber que não houve boa separação dos compostos com o sistema Acetato de etila/Ácido fórmico (95:5) (Figura 9).

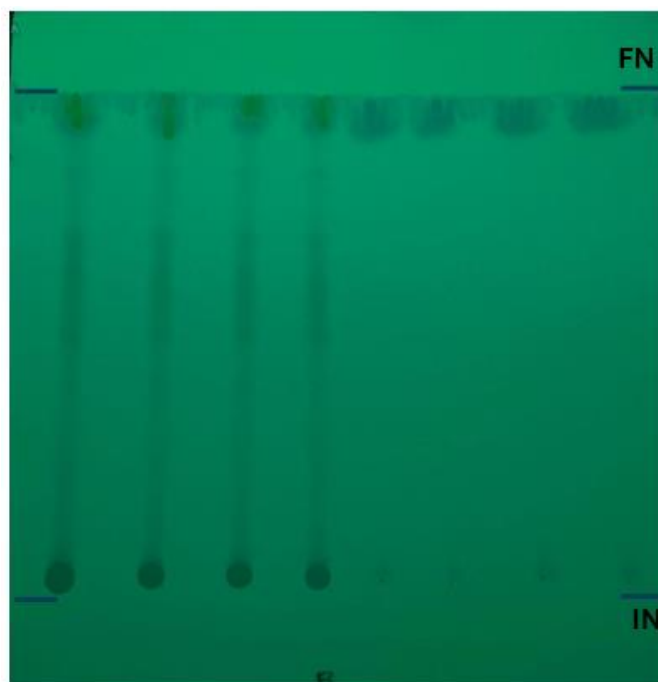


Figura 9. Placa cromatográfica contendo *fingerprint* do extrato bruto de *A. occidentale* L. (à esquerda) e o padrão de referência do ácido gálico (à direita). Fase Móvel: Acetato de etila/Ácido fórmico (95:5). A - Leitura em Câmara UV 254 nm. B- Leitura em Câmara UV 365 nm. Legenda: IN = início da corrida. FN = fim da corrida.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os dados obtidos guardam conformidade com análises de outros autores que demonstraram que as atividades farmacológicas de extratos de *A. occidentale* L. podem estar relacionados ao teor predominante de compostos fenólicos, notadamente os flavonóides (Konan, 2006; Monteiro, 2016).

Baseando-se nos relatos aqui apresentados, é evidente que além da importância dos estudos de adulterações e contaminações existe a necessidade de uma análise química detalhada de plantas destinadas ao uso terapêutico. Também se faz necessário um rigoroso controle de qualidade realizado por meio de técnicas analíticas modernas, para garantir constância na composição de metabólitos secundários no preparado fitoterápico em escala industrial (Soares *et al.*, 2024).

Os fatores expostos aqui, bem como outros que podem afetar o conteúdo final de metabólitos secundários em plantas medicinais, tais como condições de coleta, estabilização e estocagem, podem ter grande influência na qualidade e, consequentemente no valor terapêutico de preparados fitoterápicos (Gobbo-Neto; Lopes, 2007). O controle de qualidade, e a determinação de parâmetros para essas avaliações, contribuem para padronização de matérias-primas vegetais desempenhando função primordial para garantia da estrutura e ação

terapêutica replicáveis (Soares *et al.*, 2024).

CONCLUSÃO

As características anatômicas de folhas de *A. occidentale* L. aqui dispostas constituem informações complementares às que já estão presentes na literatura sobre os aspectos desse produto vegetal de outras localidades. Apresenta, no entanto, análise microscópica do pó das folhas dessa espécie, a qual não foi descrita anteriormente. O estudo incluiu uma análise das estruturas internas nas folhas integras e pulverizadas, que permitiu avaliar a homogeneidade do material vegetal empregado, independente de como este se encontra. Além disso, a análise cromatográfica do extrato forneceu dados adicionais para a autenticidade, que sugerem a presença de metabólitos secundários, como flavanoides e terpenos, em sua composição, os quais são responsáveis por parte das atividades farmacológicas dessa espécie vegetal.

Contudo, a ausência de uma análise aprofundada sobre variações geográficas e sazonais na composição fitoquímica e farmacológica das folhas é uma limitação do estudo. Futuras investigações acerca disso são necessárias para avaliar as potenciais interações entre os compostos presentes e suas implicações terapêuticas, favorecendo estabelecer padrões de controle de qualidade dessa matéria-prima vegetal cada vez mais robustos.

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**, [Granada], v. 9, n. 4, p. 815-819, 2010.

AISWARYA, G., *et al.* Study for anthelmintic activity of cashew apple (*Anacardium occidentale*) extract. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, [Telangana], v. 6, n. 1, p. 44-47, 2011.

BALBINO, L. P. R.; LIMA, L. da S. de; CURY, G. Caracterização anatômica e histoquímica de etnoespécies medicinais de cajueiro (*Anacardium occidentale* L. - Anacardiaceae). **FLOVET - Flora, Vegetação e Etnobotânica**, Cuiabá, v2, n. 13, 2024.

BAPTISTA, A. *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. **Oxid. Med. Cell Longev**, Wisconsin, v. 2018, n. 4, p. 1-13, 2018. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/324629256_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. Acesso em: 30 jan. 2024.

BASHIR, K *et al.* Foliar micromorphology and its role in identification of the Apocynaceae taxa. **Microscopy Research and Technique**, Weinheim, v. 83, n. 7, p. 755–766, 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/339336421_Foliar_micromorphology_and_its_role_in_identification_of_the_Apocynaceae_taxa. Acesso em: 20 jun. 2024.

BELHADJ, S. *et al.* Comparative Morphology of Leaf Epidermis in Eight Populations of Atlas Pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., Anacardiaceae). **Microscopy Research and Technique**, Weinheim, v. 70, n.10, p. 837-846, 2007.

BIBLIOTECA DIGITAL UFPB (BRASIL). **Anatomia Vegetal**. Biblioteca Digital de Licenciatura em Ciências Biológicas a Distância. Paraíba, 2013. Disponível em: http://portal.virtual.ufpb.br/biologia/novo_site/Biblioteca/Livro_4/7-Anatomia_Vegetal.pdf. Acesso em: 20 ago 2024.

BRANDÃO, M.G.L; MOREIRA, R. A. I.; ACÚRCIO, F. de A. Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Rev. Brasileira de Farmacognosia**, Minas Gerais, v. 11, n. 2, p. 71-76, 2001. Disponível em: <http://www.ceplamt.org.br/wp-content/uploads/2014/02/Plantas-Medicinais-e-Fitoterpicos2009.pdf>. Acesso em: 5 jul. 2024.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília, DF: Anvisa, 2019. Disponível

em: file:///C:/Users/Beatr/Downloads/VOLUME%201%20-%20FB6%201%20Err%20+%20RDC%20609%20+%202%20Err%20+%20RDC%20832%20at%C3%A9%20RDC%20844%20p%20pdf%20c%20capa.pdf. Acesso em: 6 ago 2024.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu-Paraná: a visão dos profissionais de saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 10, p. 2675-85, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/z6RsN7j4bRKfM8Lq8tQNX4N/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 6 maio 2024.

CARPENTER, K. J. Stomatal architecture and evolution in basal angiosperms. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 10, p. 1595-1615, 2005. Disponível em: <https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3732/ajb.92.10.1595>. Acesso em: 9 abr. 2024.

CARRIÓ, E.; VALLÈS, J. Ethnobotany of medicinal plants used in eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, n. 3, p. 1021-1040, 2012.

CARVALHO, L. M. **Orientações técnicas para o cultivo de plantas medicinais, aromáticas e condimentares**. Sergipe: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2015. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1028982>. Acesso em: 6 jan. 2024.

CHRISTODOULAKIS, N. S. et al. Leaf structure and histochemistry of the hardy evergreen *Euphorbia characias* L. (Mediterranean spurge). *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, v. 210, p. 13-18, 2015.

CORTEZ, P. A. **Manual prático de morfologia e anatomia vegetal**. Bahia: Editus, 2016. 92 p. ISBN 978-85-7455-423-5.

COSTA, F. V. Influência de fatores ambientais na produção de metabólitos secundários de *Calea pinnatifida* (R.Br.) Less. (*Asteraceae*) – Santa Catarina: Ed. do Autor, 2017. 128 p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Santa Catarina, 2017.

EL-TAHER, A. M. et al. Taxonomic implication of integrated chemical, morphological, and anatomical attributes of leaves of eight Apocynaceae taxa. **Diversity**, v. 12, n. 9, p. 334, 2020.

ENCARNAÇÃO, S. et al. Micromorphology and Chemical Studies on *Anacardium occidentale* L. Stem Bark as an Herbal Medicine. **Plants**, v. 12, n. 1, p. 7, 2022.

FRASSON, A. P. Z.; BITTENCOURT, C. F.; HEINZMANN, B. M. Caracterização físico-química e biológica do caule de *Caesalpinia ferrea* Mart.

Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 13, p. 35-39, 2003.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

ISLAM, M. T. et al. Plant tannin and chitosan-templated cellulose for improved absorption of UV protective natural chromophores. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 21, p. 100452, 2021.

JAISWAL, Y.; et al. Pharmacognostic and preliminary phytochemical investigations of *Anacardium occidentale* (Linn.) leaves. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, p. 625-631, 2012.

KONAN, N. A. **Estudo farmacognóstico e toxicológico de *Anacardium occidentale* Linn (*Anacardiaceae*) clone CCP – 76**. 189 p. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia. São Paulo, 2006.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: Rima, 2004. 531 p.

LAPENN, S.; DINAN, L. HPLC and TLC characterisation of ecdysteroid alkyl ethers. **Journal of Chromatography B**, v. 877, n. 27, p. 1-7, dez. 2009.

MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Jardim Botânico Plantarum.

LUCENA, V. M. X. **Diversidade genética entre genótipos de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e qualidade do fruto e pseudofruto**. 2006. 91 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2006.

MARTINEZ-MILLAN, Marcela e CEVALLOS-FERRIZ, Sergio R. S.. Arquitectura foliar de *Anacardiaceae*. **Rev. Mex. Biodiv.** [online], vol.76, n.2, pp.137-190, 2005. ISSN 2007-8706.

MASHIMBYE, N. N.; MOTEETEE, A. N.; OSKOLSKI, A. A. Stem and leaf structure of *Searsia erosa* (Thunb.) Moffett (*Anacardiaceae*) with systematic, ecological and ethnobotanical implications. **Botanica Pacifica**, v. 9, n. 2, p. 103-112, 2020.

MEDEIROS, S. S.; CECILIO, R. A.; MELO JÚNIOR, J. C. F.; SILVA JUNIOR, J. L. C. Estimativa e espacialização das temperaturas do ar mínimas e máximas na região nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, p. 247-255, 2005.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the Dicotyledons**. Oxford: Clarendon Press, 2005.

MONTEIRO, R. P. M. **Desenvolvimento de perfis cromatográficos típicos e quantificação de polifenóis das folhas e cascas de *Anacardium occidentale***. 2016. 131 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências

Farmacêuticas, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

MOSCON, G. Z.; PESSOA, M. J. G.; CUNHA, M. Anatomia e Histoquímica de Ductos Secretores em Espécies de Anacardiaceae R. Br em Savanas Amazônicas. *In*: CONGRESSO FLUMINENSE DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, 12. / CONGRESSO FLUMINENSE DE PÓS-GRADUAÇÃO, 5., 2020, Rio de Janeiro. **Anais eletrônicos [...]** Rio de Janeiro, UENF, 2020.

NICOLETTI, M. HPTLC fingerprint: a modern approach for the analytical determination of Botanicals. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 21, n.5, p. 818-823, 2011.

NUNES, M. R. et al. Evaluation of the antibacterial activity of cashew seed pellicle (*Anacardium occidentale* L.). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p. e27611821716, 2022.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. **Farmacognosia: Identificação de drogas vegetais**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2014.

RAMOS, G. Q.; COTTA, E. A.; FONSECA FILHO, H. D. da. Studies on the ultrastructure in *Anacardium occidentale* L. leaves from Amazon in northern Brazil by scanning microscopy. **Scanning**, v. 38, n. 4, p. 329-335, 2016.

RAMOS, G. Q. et al. Molhabilidade e morfologia da superfície da folha em cajueiro da Amazônia na Região Norte do Brasil. **Acta Sci. Biol. Sci.**, v. 38, p. 215-220, 2016.

RODRIGUES, A. C. **Anatomia Vegetal**. Florianópolis. Biologia/EaD/UFSC, 2015. 152 p. ISBN: 978-85-61485-27-6.

ROYO, Vanessa & Mercadante-Simões, M. & Ribeiro, Leonardo & Oliveira, Dario & Aguiar, Marcela & Costa, Ellenise & Ferreira, Perácio. Anatomy, Histochemistry, and Antifungal Activity of *Anacardium humile* (Anacardiaceae) Leaf. **Microscopy and Microanalysis**. v.22. p.1-13, 2015.

SALES, M. D. C.; SARTOR, E. de B.; GENTILLI, R. M. L. Etnobotânica e etnofarmacologia: medicina tradicional e bioprospecção de fitoterápicos. **Salus J. Health Sci.**, v. 1, n. 1, p. 17-26, 2015.

SANTOS, L. C.; FURLAN, M.; AMORIM, M. R. **Produtos naturais bioativos**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2016.

SHINDE, D. B.; CHAVAN, M. J.; WAKTE, P. S. HPTLC in Herbal Drug Quantification. *In*: SRIVASTAVA, M. **High-Performance ThinLayer Chromatography (HPTLC)**. 1 ed., Berlim, 2011. p. 117-138.

SILVA, K. C. da et al. Technological mapping of the species *Anacardium occidentale*: Prospective analysis in Brazil and in the world. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. e47511427669, 2022. DOI: 10.33448/rsd-

v11i4.27669.

SIMÕES, C. O. M et al. **Farmacognosia**: do produto natural ao medicamento. 1.ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOARES, V. D. M. et al. Pharmacological Activities of the Phenolic Constituents from *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae): A Systematic Review. (2024). **Revista Brasileira De Plantas Mediciniais**, v.24, n.4, p.134-144, 2024. Doi.org/10.70151/9yzqbx06.

UPTON, R. et al. (ed.). **American herbal pharmacopoeia**: botanical pharmacognosy-microscopic characterization of botanical medicines. [S. l.]: [s. n.], 2016.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis**: a thin layer chromatography atlas. Alemanha: Springer Science and Business Media, 1996.

WAHO. West African Health Organisation. **West African Herbal Pharmacopoeia**. Bobo-Dioulasso, Burkina Faso: WAHO. 2. ed. v. 1, p. 21-33, 2020.

CAPÍTULO 2

ESTUDO QUÍMICO, ANTIBACTERIANO E TOXICOLÓGICO DAS FOLHAS DE *Anacardium occidentale* L. DA AMAZÔNIA MARANHENSE

RESUMO

A resistência antimicrobiana tem contribuído para agravos à saúde e dificuldades em preservar tratamentos convencionais, favorecendo o aparecimento de patógenos mais resistentes. Nesse contexto, *Anacardium occidentale* L., espécie vegetal utilizada na prática popular por suas características antioxidantes, anti-inflamatórias e antibacterianas, tem exercido papel fundamental como recurso alternativo. Assim, este estudo teve como objetivo investigar o perfil fitoquímico, a toxicidade e atividade antibacteriana das folhas de *A. occidentale* coletadas em 2022 no bioma amazônico do município de São Luís, Maranhão. Após secagem e pulverização, o material foi submetido à maceração com etanol 70%, durante 15 dias, resultando no extrato bruto hidroalcoólico das folhas (EBF). Este extrato foi então fracionado de maneira sucessiva com solventes de polaridade crescente: hexano (FHX), clorofórmio (FCL) e acetato de etila (FAC), obtendo-se as respectivas frações. A caracterização fitoquímica foi realizada por meio de testes fitoquímicos e cromatografias, incluindo cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A atividade antibacteriana foi avaliada contra três cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923, ATCC 6538 e cepa clínica) utilizando os métodos de difusão em ágar e microdiluição em placas de 96 poços. A atividade foi medida pelos halos de inibição, concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM). A toxicidade foi investigada por meio de testes de hemólise e utilizando o modelo de larvas de *Tenebrio molitor*. A análise fitoquímica do EBF indicou a presença de flavonoides e terpenos, enquanto as frações FHX, FCL e FAC apresentaram diferentes perfis fitoquímicos, com destaque para compostos como taninos, fenóis, flavonoides e saponinas. A atividade antibacteriana demonstrou que tanto o EBF quanto a fração acetato de etila (FAC) exibiram atividades significativas contra *S. aureus*, com halos de inibição variando de 12 a 26,3 mm a 2 mg/mL. As CIM foram de 2 mg/mL para o EBF e 1 mg/mL para a FAC. A CBM foi observada apenas para a FAC contra a cepa *S. aureus* ATCC 25923, com valor de 2 mg/mL. As amostras apresentaram baixa atividade hemolítica, com valores de CE₅₀ variando entre 1799 e 8863 µg/mL, e a taxa média de sobrevivência das larvas de *T. molitor* foi de 70% em todas as concentrações avaliadas. Este estudo reforça as evidências de que as folhas de *A. occidentale* possuem atividade bacteriostática e bactericida promissora, com baixa toxicidade, contribuindo para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas seguras e eficazes.

Palavras-chave: atividade hemolítica; composição química; extrato vegetal; flavonoides; microrganismos; *Tenebrio molitor*.

1 INTRODUÇÃO

A resistência antimicrobiana (RAM) é um processo que ocorre devido à interação entre os microrganismos patogênicos e o ecossistema, e a ineficácia dos agentes terapêuticos em realizar tratamento específico (Marques; Santos; Costa, 2023). Como consequência da resistência às terapias convencionais, as infecções tornam-se desafiadoras de tratar, aumentando risco de propagação de agravos à saúde, incapacidade e morte (Teixeira *et al*, 2019; Urbaneja & Urbaneja, 2024).

Staphylococcus aureus é uma das principais preocupações para a saúde pública, pois se caracteriza como um grande representante dos microrganismos multirresistentes, apresentando diversos fatores de virulência, sendo capaz de causar bacteremias, endocardites, infecções de pele e ósseas, além de ser recorrente em infecções nosocomiais (Uhlemann *et al*, 2014; Turner *et al*, 2019).

O uso de plantas medicinais, além do constante incentivo da Pesquisa & Desenvolvimento & Inovação (P&D&I), de novos produtos de origem vegetal, têm se mostrado uma escolha promissora para a resistência bacteriana, especialmente com espécies vegetais nativas. Os metabólitos secundários provenientes dessas matrizes vegetais podem contribuir para o combate à microrganismos multirresistentes, sendo um tratamento alternativo e/ou complementar, e, na maioria das vezes, de baixa toxicidade (Pinho *et al.*, 2012; Simonetti *et al.*, 2016; Rempel *et al.*, 2019; Silva & Nogueira, 2021).

Anacardium occidentale Linn, pertencente à família Anacardiaceae, conhecida popularmente como cajueiro, é uma espécie vegetal nativa do nordeste brasileiro, amplamente utilizada para fins terapêuticos (Lucena, 2006; Nunes *et al*, 2022).

Seu extrato tem se mostrado eficiente contra muitos microrganismos, incluindo bactérias Gram positivas, como no caso de *S. aureus* (Gonçalves *et al.*, 2005; Sá Júnior *et al*, 2016). Além de demonstrar elevado poder anti-inflamatório e antioxidante que confere proteção às células (Salehi *et al.*, 2019).

Nesse contexto, este estudo teve como objetivo investigar o perfil fitoquímico, atividade antimicrobiana e toxicidade das folhas de *A. occidentale* L. coletadas no bioma amazônico do município de São Luís.

2 METODOLOGIA

2.1 Coleta e identificação botânica

As folhas da espécie vegetal *A. occidentale* (SISGEN = A128FE9) foram coletadas no bairro Itaqui-Bacanga nas imediações do Parque Estadual do Bacanga (2°55'46", 44°30'61"), em São Luís, Maranhão, nos meses de setembro e outubro de 2022, e suas exsicatas foram identificadas no Herbário do Maranhão - MAR (UFMA) sob o número de voucher 13949.

2.2 Preparação do extrato vegetal e frações

2.2.1 Extrato bruto

As folhas de *A. occidentale* foram secas em temperatura ambiente durante uma semana e o material vegetal previamente triturado, obtendo pó de granulometria grossa, e então submetido a método de extração por maceração. Os extratos foram obtidos em hidromódulo 1:10 (m/v), em etanol a 70%. A maceração foi realizada durante 15 dias, sob agitação constante e, em seguida, foram filtrados. Os extratos obtidos foram concentrados em rotaevaporador e acondicionados em frascos de vidro a 4°C (Brasil, 2019; Sousa *et al.*, 2021), obtendo rendimento médio de 39,75%.

2.2.2 Fracionamento do extrato

O extrato obtido por maceração foi submetido ao processo de extração líquido-líquido, utilizando solventes de diferentes polaridades: hexano, clorofórmio e acetato de etila. Para isso, o extrato hidroalcoólico seco (30 g) foi ressuspensionado com mistura etanol:água (6:4), e depois particionado com os solventes citados. Este processo foi repetido por 6 vezes, a fim de esgotar os compostos solúveis em cada solvente (Rocha, 2017). Após evaporação dos solventes, as frações foram concentradas para posterior análise.

2.3 Estudo químico

2.3.1 Screening fitoquímico

O extrato bruto hidroalcoólico e frações obtidos foram submetidos a testes

de prospecção fitoquímica para verificar a presença de metabólitos secundários (Matos, 2009). As classes de metabólitos secundários testados foram: fenóis e taninos (reação com cloreto férrico), flavonoides (variação de pH), saponinas (teste de espuma), esteroides e triterpenos (Liebermann-Buchard) e alcaloides (identificação por reagentes de Mayer, Hager e Dragendorff) (Matos, 2009).

2.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência aplicada ao espectrômetro de massa (CLAE-EM)

2.3.2.1 Preparo das amostras

O extrato bruto hidroalcólico e fração acetato de etila de *A. occidentale*, para serem analisados por cromatografia em fase líquida, passaram pelo processo clean-up (Hakme; Poulsen, 2021), que consiste na remoção de interferentes em matrizes sólidas com solventes polares por extração em fase sólida (SPE). Foram utilizados cartuchos de sílica Strata C18 (500 mg/6 mL, Phenomenex, Torrance, CA) ativados previamente com 3,0 mL de Metanol (MeOH) (Mnyandu; Mahlambi, 2021). Dissolveu-se 0,05 g dos extratos metanol e acetato em 1,0 mL de MeOH. Em seguida, cada amostra dissolvida foi transferida para os cartuchos de SPE (5 mL) e eluídas com 1,0 mL do mesmo solvente. Por fim, as amostras passaram por um processo de secagem utilizando um secador convencional (MONDIAL) a jato frio durante 10 minutos, posteriormente foram solubilizadas em 1,0 mL MeOH e filtradas em microfiltro de polipropileno de 0,45 µm de poro. Após serem submetidos ao procedimento de limpeza por clean-up, os extratos brutos foram analisados por HPLC-MS.

2.3.2.2 CLAE-EM

Os extratos brutos *clean*, também solubilizados em metanol na concentração de 0,01 mg/mL, foram analisados em cromatógrafo líquido Shimadzu Prominence com duas bombas injetoras automáticas Shimadzu LC-20AD (SIL-20A HT). E acoplado a um espectrômetro de massa (Amazon X, Bruker, Massachusetts, EUA) equipado com ionização por eletrospray (ESI) e um analisador do tipo ion-trap (IT) em modo negativo, nas seguintes condições: tensão capilar 5 kV, capilar temperatura 325 °C, fluxo de gás de arrastamento (N₂) 12 L/min, pressão do nebulizador de nitrogênio a 10 psi. O intervalo de

aquisição foi de m/z 100–1500, com dois ou mais eventos. Na análise foi empregada uma coluna C18 Phenomenex Gemini (250 x 4,6 mm - 5 μ m). A fase móvel A foi constituída de 0,01% de ácido fórmico em água ultrapura, e a fase B, de 0,01% de ácido fórmico em metanol grau HPLC. O modo de eluição utilizado foi o gradiente exploratório, em que a concentração de B variou na faixa de 5 a 100% em 60 minutos e 100% em 10 minutos, num fluxo de 1,0 mL/min. O volume da amostra injetada foi de 10 μ L e a temperatura do forno foi de 23 °C. Os compostos foram identificados pela determinação da estrutura, massa aproximada e comparação de bancos de dados de espectros públicos MassBank (PILON *et al.*, 2021).

2.4 Avaliação antibacteriana

2.4.1 Microrganismos

Para a realização dos testes foram utilizadas 3 amostras de *S. aureus* de isolados bacterianos, sendo 2 amostras padrão (*S. aureus* ATCC 25923 e *S. aureus* ATCC 6538) e 1 amostra clínica (Ferida de pele). Todas as amostras pertencem à bacterioteca do Laboratório de Ciências Biomédicas da Universidade CEUMA, que se encontram estocadas em glicerol e armazenadas a -20 °C (Simões, 2013). As amostras foram cultivadas por 24h/37°C em meio Ágar Mueller Hinton (AMH, Difco).

2.4.2 Técnica de difusão em ágar

Com auxílio de swab estéril, suspensões bacterianas foram preparadas em salina estéril com turvações correspondentes a 0,5 da escala de McFarland [$1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC)/mL] e foram semeadas nas placas. Em placas de Petri contendo meio Ágar Mueller Hinton (AMH, Difco) foram feitos poços de cerca de 10 mm de diâmetro. Os poços foram preenchidos com aproximadamente 200 μ L do extrato bruto e frações nas concentrações de 4000 e 2000 μ g/mL, e em seguida as placas foram incubadas em estufa por 24h a 37°C. Após o período de incubação, mediu-se com uma régua (em milímetros) os halos de inibição ao redor dos poços. Cloranfenicol (30 μ g/mL) foi utilizado como controle positivo e dimetilsulfóxido (DMSO) a 1%, solvente utilizado para diluição do extrato e frações, como controle negativo (Firmo, 2018; Miranda *et*

al., 2015; Sadati *et al.*, 2023). Os experimentos foram realizados em triplicata.

2.4.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima e Bactericida Mínima

A atividade antibacteriana foi analisada através da determinação das concentrações inibitória mínima (CIM) e bactericida mínima (CBM). Foi utilizada a espécie *S. aureus*. A determinação da CIM foi realizada através de ensaio de micro diluição em placas de 96 poços de poliestireno. Uma alíquota de 10 µL de suspensão bacteriana ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL) foi adicionada a uma diluição seriada (1:2) da solução do extrato e frações (obtida com DMSO a 1% e solução salina 0,9% com obtenção de concentração inicial 4000 µg/mL) preparada em Trypticase Soy Broth (TSB) e incubada durante 24h a 37°C. A solução de resazurina 0,03% foi utilizada como indicador de crescimento, e as alterações de cor de roxo para rosa foram registradas como crescimento do microrganismo. A concentração mais baixa na qual não ocorreu alteração de cor foi considerada como CIM. Cloranfenicol (30 µg/mL) foi usado como controle positivo. Posteriormente, alíquotas dos poços onde não foi observado crescimento microbiano foram semeadas em placas contendo Ágar Mueller Hinton e incubadas durante 24h a 37°C para determinar a CBM, que corresponde à concentração mínima do extrato e frações necessários para eliminar os microrganismos. A amostra foi considerada como agente bacteriostático ou bactericida quando se observou razão $CBM/CIM > 4$ ou razão $CBM/CIM \leq$ respectivamente (Santos *et al.*, 2020).

2.5 Avaliação de toxicidade

2.5.1 Atividade hemolítica

Para o ensaio foram obtidas hemácias de humano voluntário e saudável (com nenhuma história recente de antibioticoterapia ou uso de drogas anti-inflamatórias e/ou doenças infecciosas em até três semanas antes da coleta da amostra).

O ensaio foi realizado segundo o método de Yang *et al.* (2005). Foi coletada uma amostra de sangue e uma alíquota de 4 mL foi lavada três vezes

com solução salina (0,9%) por centrifugação a 3000 rpm, durante 5 min, sendo o sobrenadante descartado. Os eritrócitos sedimentados no tubo foram diluídos em solução salina até a obtenção de uma suspensão a 1%. Um volume de 0,5 mL desta suspensão de células foi misturado a 0,5 mL de soluções dos materiais testados, contendo concentrações de 1000 a 5 µg/mL dos extrativos. As misturas incubadas a 37°C, com agitação contínua, durante 60 min. As soluções foram, então, centrifugadas a 3000 rpm por 5 min. A absorbância do sobrenadante foi medida a 540 nm. As suspensões de hemácias acrescidas de solução salina e de água destilada, respectivamente, o controle hemolítico mínimo e máximo. Para eliminar a interferência do extrato e frações na absorbância, foram preparadas soluções controle (branco), não havendo a adição da solução de hemácias. Todos os experimentos foram realizados duas vezes em triplicata. Esse protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa sob número de protocolo 1.732.522.

2.5.2 *Tenebrio molitor*

Para avaliar o efeito tóxico do extrato e das frações em modelo *in vivo* alternativo foram utilizadas larvas do inseto *Tenebrio molitor*, família Tenebrionidae (Edosa *et al.*, 2020). As larvas com pesos próximos de 100 mg foram randomizadas em grupos de 10 larvas. Antes da inoculação da amostra em diferentes concentrações, as cutículas das larvas foram limpas com álcool 70%. Após todo procedimento de higienização das larvas, foram injetados 10 µL do extrato e frações nas concentrações de 4000, 2000, 1000 e 500 µg/mL com auxílio de uma seringa de insulina estéril. As larvas foram mantidas em placas de petri estéril, sendo avaliadas a sobrevivência e melanização diariamente, por 5 dias. A curva de sobrevivência foi determinada com base na ausência de movimento e melanização total das larvas. Para o controle negativo, foi injetado 10µL de tampão fosfato salino (PBS) 1% estéril (Froes *et al*, 2023).

2.6 Análise estatística

Os testes estatísticos foram obtidos no software GraphPad Prism 8 para análise dos dados de atividade antibacteriana de difusão em ágar, sendo expressos em média $\pm$ desvio-padrão. Assim como, para os testes que determinaram a concentração eficiente, letal e citotóxica utilizou-se regressão

linear e não linear. Nos ensaios que verificaram as diferenças entre os grupos a comparação foi realizada com o teste de Tukey, sendo valores significantes se $p < 0,05$. A curva de sobrevivência no ensaio com as larvas de *T. molitor* foi realizada com os testes de Kaplan-Meier analisando os resultados com o teste Log-Rank (Mantel-Cox), sendo considerado $p < 0,05$ como significativo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise fitoquímica

O estudo fitoquímico de plantas medicinais constitui uma possibilidade na busca de agentes terapêuticos inovadores, para identificar a atividade farmacológica de tais plantas, como *A. occidentale* L. A demanda por constituintes do metabolismo secundário das plantas aumentou e estimulou a busca por novos compostos com atividades biológicas (Doss e Thangavel, 2011; Santos, 2013).

As folhas, o pseudofruto e a casca de *A. occidentale* possuem polifenóis, principalmente taninos (Pereira *et al.*, 2015). Esses compostos fitoquímicos representam um conteúdo importante que pode estar relacionado a atividades biológicas significativas. Além disso, o extrato de caju tem sido utilizado como medicina alternativa para cuidados de saúde primários (Kubo *et al.*, 2011). Os compostos fenólicos, como os flavonoides presentes nessa espécie, revelam seu alto poder anti-inflamatório e antioxidante, os quais oferecem proteção às células (Salehi *et al.*, 2019).

Na análise fitoquímica preliminar realizada, o extrato hidroalcoólico e a fração acetato de etila das folhas de *A. occidentale* obtiveram os melhores resultados, em comparação às demais frações, por apresentarem reações positivas para um maior número de metabólitos secundários. Não foi observada a presença de terpenos, leucoantocianidinas e chalconas em todas as amostras testadas (Tabela 1). É provável que a concentração desses metabólitos nas amostras esteja abaixo do limite de detecção, ou ainda, as variações nas condições de cultivo e coleta, e fatores ambientais influenciem a presença dos compostos.

Tabela 1. Determinação qualitativa das classes metabólicas do extrato bruto hidroalcóolico e frações das folhas de *Anacardium occidentale* Linn.

Metabólitos secundários		<i>Anacardium occidentale</i>				
		EBF	FHX	FCL	RE	FAC
Fenóis		+	-	-	-	+
Taninos	Taninos Hidrolisáveis	+	-	-	-	+
	Taninos Condensados	-	+	+	-	-
Flavonoides	Antocianidinas e Antocianinas	-	-	-	-	-
	Flavonas, Flavonois e Xantonas	+	+	+	-	-
	Chalconas	-	-	-	-	-
	Flavanonois	-	-	-	-	-
	Leucoantocianidinas	-	-	-	-	-
	Catequinas	+	+	+	-	+
	Flavanonas	+	-	-	-	-
Terpenos		-	-	-	-	-
Esteroides		+	+	+	-	+
Alcaloides		+	-	-	-	+
Saponinas		+	-	+	+	+

EBF = extrato bruto hidroalcóolico, FHX = fração hexânica, FCL = fração clorofórmica, RE = resina, FAC = fração Acetato de etila, + reação positiva, - reação negativa.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Em estudo de triagem fitoquímica realizado por Togola *et al.* (2020), foram identificados flavonoides e cumarinas nos extratos aquoso, metanólico e acetato de etila das folhas e cascas de caule de *A. occidentale*. De forma consistente com nossos achados, a fração acetato de etila das folhas revelou a presença de taninos e fenóis. Embora os terpenos tenham sido observados nas amostras, a fração acetato de etila destacou-se pela concentração e diversidade dos compostos fenólicos.

Aponjolosun e Fasola (2020) também destacaram a fração acetato de etila em suas investigações fitoquímicas, antimicrobianas e de toxicidade. Essa fração se revelou particularmente enriquecida com taninos, compostos reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas e cicatrizantes, que têm sido amplamente estudados pelo seu potencial terapêutico no processo de cicatrização de feridas (Ashok; Upadhyaya, 2012).

O ambiente em que as plantas medicinais se desenvolvem pode contribuir para o seu melhor desenvolvimento e concentração de seus princípios ativos (Salerno; Silva Junior; Agostini, 2011). Fatores ambientais, como altitude,

umidade relativa do ar, tipo de solo, disponibilidade de água e de nutrientes, irão caracterizar o meio apropriado para cada espécie, influenciando no desenvolvimento e na produção de princípios ativos das plantas (Bianchini, 2011).

Existe uma correlação positiva bem estabelecida entre intensidade de radiação solar e produção de compostos fenólicos, tais como flavonoides, taninos e antocianinas. Isso pode ser explicado, principalmente no caso de flavonoides e fenilpropanoides correlatos, pela proteção contra a foto-destruição proporcionada por estes metabólitos ao absorver e/ou dissipar a energia solar, dificultando assim a danificação dos tecidos mais internos pela radiação UV-B (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Costa, 2017).

O solo de regiões áridas pode favorecer o aparecimento de compostos fenólicos em concentrações mais altas nessa planta, provavelmente decorrente do estresse hídrico que está submetida (Gobbo-Neto; Lopes, 2007; Costa, 2017). No caso apresentado em nosso estudo, de bioma Amazônia, os extratos obtidos apresentam flavonoides e taninos em maior evidência, os quais são reconhecidos pela sua ação antioxidante e antimicrobiana.

Em estudo realizado em dois municípios do Nordeste Brasileiro (Costa *et al*, 2022), avaliando fatores ambientais e sua influência na diversidade metabólica de compostos fitoquímicos das folhas e cascas de caule de *A. occidentale* L., foram observadas diferenças físico-químicas no solo de tais localidades. Principalmente no que se refere ao acúmulo de micronutrientes. Isso se deve a características de Cerrado e Mata Atlântica encontradas nos municípios estudados. E, assim como disposto em nosso estudo, os principais metabólitos encontrados foram fenóis, flavonoides e taninos.

Ao comparar amostras de regiões distintas do Brasil (Assunção; Mercadante, 2003), essas diferenças tornam-se ainda mais expressivas. *A. occidentale* L. cultivados no Nordeste apresentam concentrações totais de carotenoides e vitamina A mais altas, quando relacionados aos semeados no Sudeste do país, devido a presença de níveis altos de antioxidantes, como a criptoxantina.

3.2 Interessante atividade antibacteriana na fração Acetato de etila

O extrato bruto e fração acetato de etila s resultados mostraram atividade

antibacteriana, destacando a concentração de 2 mg/mL para ambas as amostras. A melhor inibição foi evidenciada na concentração de 4 mg/mL para FAC, com halo inibitório de 26,3 mm (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade antibacteriana do extrato bruto hidroalcoólico e frações de *Anacardium occidentale* Linn contra *Staphylococcus aureus* pelo método de difusão em ágar.

Extrato e frações	<i>Staphylococcus aureus</i>					
	ATCC 25923		ATCC 6538		Clínica (ferida de pele)	
	4 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL	2 mg/mL	4 mg/mL	2 µg/mL
Extrato bruto	12±0,10 ^a	11,3±0,05 ^a	14±0,00 ^a	13±0,10 ^a	14,6±0,05 ^a	10±0,00 ^a
Acetato de etila	24,6±0,05 ^b	17,0±0,10 ^a	20,6±0,15 ^b	17,6±0,25 ^a	26,3±0,11 ^b	16,3±0,05 ^a
Clorofórmio	NHI	NHI	NHI	NHI	NHI	NHI
Hexano	NHI	NHI	NHI	NHI	NHI	NHI
Resina	NHI	NHI	NHI	NHI	NHI	NHI

ATCC: *American Type Culture Collection*; NHI: Não houve halo de inibição com as concentrações avaliadas. Os resultados foram expressos em mm. Valores com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa (Teste de Tukey $p < 0,05$).

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Em geral, as outras frações (clorofórmio, hexano e resina) não apresentaram atividade nos microrganismos avaliados. A ausência de uma zona de inibição não significa necessariamente que o extrato seja inativo frente ao microrganismo testado, mas sim que a difusão não foi completa, especialmente para os compostos menos polares que se difundem mais lentamente no meio de cultura (Bona *et al.*, 2014).

Resultados semelhantes foram relatados por Alves *et al.* (2008) e Rios *et al.* (1988), ao afirmarem que isso pode estar relacionado com a dificuldade de difusão do extrato no meio de cultura sólido, ou ainda, devido às características lipofílicas de algumas amostras e/ou a natureza química das substâncias isoladas.

A avaliação da atividade antibacteriana da fração acetato de etila de *A. occidentale* frente a *S. aureus* revelou resultados notáveis, superando os achados de estudos anteriores. Ajileye *et al.* (2015) realizaram teste de difusão em ágar e observaram uma zona de inibição de 7,0 mm em concentrações variando entre 5,0-20 mg/mL. Em contraste, o extrato bruto de *A. occidentale* apresentou baixa atividade antibacteriana, sem evidências significativas de inibição. Tais resultados ressaltam a alta eficiência das amostras analisadas

neste estudo, que demonstraram halos de inibição superiores, mesmo com concentrações 5 a 10 vezes menores.

De maneira semelhante, Aguillar *et al.* (2012) testaram as frações hexânica, clorofórmica e acetato de etila das folhas de *A. occidentale* contra *S. aureus*, e observaram halos de inibição de 8, 10 e 13 mm, respectivamente. No entanto, o perfil da fração acetato de etila em nosso estudo demonstrou uma atividade antimicrobiana mais robusta, com halos de inibição superiores.

Para determinar a suscetibilidade de *Staphylococcus aureus* ao extrato, o método de microdiluição em caldo, foi realizado tanto contra cepas de referência quanto contra isolado clínico de cepas de *S. aureus*. O valor da CIM foi de 1 mg/mL para *S. aureus* ATCC 25923 e de 2 mg/mL para *S. aureus* ATCC 6538 para o extrato bruto, e a fração Acetato de etila foi de 1 mg/mL para *S. aureus* ATCC 25923 e de 1 mg/mL para *S. aureus* ATCC 6538 (Tabela 3). A CBM foi de 2 mg/mL para *S. aureus* ATCC 25923 na FAC. Nesta concentração, as células não conseguiram recuperar o seu crescimento, enquanto que em concentrações acima de 2 mg/mL a 4 mg/mL, as células ainda conseguiram crescer na placa de ágar após o mesmo período de incubação (Tabela 3).

Tabela 3. Concentração inibitória e bactericida mínima do extrato bruto hidroalcoólico e frações de *Anacardium occidentale* Linn contra *Staphylococcus aureus*.

Extrato e frações	<i>Staphylococcus aureus</i>								
	ATCC 25923			ATCC 6538			Clínica (ferida de pele)		
	CIM	CBM	CBM/CIM	CIM	CBM	CBM/CIM	CIM	CBM	CBM/CIM
Extrato bruto	1	ND	ND	2	ND	ND	2	ND	ND
Acetato de etila	1	2	2	1	ND	ND	1	ND	ND
Clorofórmio	2	ND	ND	1	ND	ND	1	ND	ND
Hexano	2	ND	ND	2	ND	ND	2	ND	ND
Resina	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cloranfenicol	0,05	ND	ND	0,11	7,5		0,05	15	

ATCC: *American Type Culture Collection*; CIM: Concentração Inibitória Mínima; CBM: Concentração Bactericida Mínima. ND: Não foi possível definir com as concentrações avaliadas. Os resultados foram expressos em mg/mL.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A atividade antimicrobiana do extrato da polpa do suco de caju frente *S. aureus* foi relatada por Diaz-Souza *et al.* (2017), onde observaram que todos os isolados clínicos testados apresentaram concentração inibitória mínima de 15.6mg/mL. Isso abrange a eficiência da extração de antimicrobianos

fitocompostos presentes no extrato da polpa do suco de caju. Além disso, foram realizados testes com extrato bruto; assim, alguma interferência é esperada na atividade antimicrobiana devido às interações de múltiplos fitocompostos.

Na avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico e fração acetato de etila de folhas de *A. occidentale* frente bactérias patogênicas Gram negativas e positivas, dentre elas *S. aureus*, Chabi *et al.* (2014) observaram que a concentração inibitória de ambas as amostras foi relativamente menor (0,313 mg/mL) que a encontrada em nosso estudo (1 mg/mL). Observou-se também que os extratos foram mais eficazes contra bactérias Gram positivas do que Gram negativas. Esses resultados podem ser explicados pelo fato de as bactérias Gram positivas serem desprovidas de membrana externa em suas paredes celulares. Assim, a membrana externa pode ser responsável pela diferença observada no nível de sensibilidade entre os Gram + e - na presença do extrato (Forsythe, 2013; Madigan *et al.*, 2017).

Em estudo realizado por Silva *et al.* (2016) com os extratos das folhas de *A. occidentale*, estes observaram que a concentração bactericida mínima obtida foi de 10 mg/mL frente *S. aureus*. Os valores apresentados referem-se a uma atividade 10 vezes menor a que foi disponibilizada em nossas amostras (1 e 2 mg/mL), evidenciando o potencial antibacteriano destas.

Sobre a relação CBM/CIM, que determina a capacidade da espécie vegetal ter efeito bactericida ou bacteriostático, nota-se na Tabela 3, parte das frações estudadas são agentes bacteriostáticos. Apenas a fração acetato de etila, em uma das cepas analisadas, tem potencial em ser bactericida, isso considerando as amostras para as quais foi possível fazer a relação CBM/CIM, pois a razão encontrada foi <4 (Hazen 1998; Pfaller *et al.* 2004; Meletiadiis *et al.* 2007).

A avaliação antibacteriana apresentada pode ser considerada como atividade moderada a leve (Mussin e Giusano, 2020) revelando associação bacteriostática para o extrato bruto e frações hexânica, e clorofórmica; enquanto que a potencial ação bactericida, se deve a fração acetato de etila.

O rendimento dos extratos obtidos é fortemente influenciado pelas características do solvente utilizado na extração, particularmente pela sua polaridade. No caso da FAC, sua polaridade intermediária desempenha um papel crucial na extração de fito constituintes específicos, como flavonoides,

taninos e compostos fenólicos, que são amplamente reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas. A capacidade do acetato de etila de extrair esses compostos está diretamente relacionada à sua polaridade, que permite uma interação eficaz com substâncias polares, promovendo sua solubilização e consequentemente sua maior concentração na amostra. Além disso, a extração com solventes como o acetato de etila favorece também a obtenção de ácidos triterpênicos e outros compostos bioativos que, juntos, contribuem para o potencial terapêutico das amostras. Em contrapartida, solventes menos polares, como o hexano, tendem a extrair compostos como esteroides e terpenos (Cechinel Filho; Yunes, 1998; Silva; Lopes, 2020). Esses resultados destacam a importância da escolha do solvente na maximização do teor de constituintes ativos, especialmente na FAC, que se revela particularmente eficaz na extração de compostos antimicrobianos.

3.3 Presença de compostos fenólicos enaltece fração acetato

Grande parte das pesquisas fitoquímicas e farmacológicas realizadas no Brasil concentram-se no isolamento de substâncias ativas. Isso permite identificar diversas substâncias em amostras complexas, como os extratos vegetais, renovando o interesse por compostos vegetais que podem ser utilizados como modelos na busca por novos medicamentos (Marques, 2009; Souza; Mendonça; Silva, 2013).

Com base na fitoquímica e no uso de marcadores quimiotaxonômicos, tem sido sugerido o reposicionamento de espécies vegetais dentro de famílias e/ou subfamílias botânicas. Essas ferramentas auxiliam na identificação dos constituintes químicos isolados, facilitando a classificação das espécies (Cardoso *et al.*, 2008; Choze; Delprete; Lião, 2010; Souza; Mendonça; Silva, 2013).

Considerando os resultados dos testes antibacterianos e o screening fitoquímico, os estudos cromatográficos por CLAE-EM das folhas de *A. occidentale* foram realizados somente no EBF e FAC. O gradiente exploratório permitiu a separação inicialmente dos compostos mais polares, seguido dos compostos de menor polaridade, que possuem maior afinidade com a fase estacionária. Os extratos apresentaram de 29 a 42 constituintes (Figuras 1 e 2).

Flavonas, flavonois e flavonois glicosilados são compostos fenólicos que podem ser detectados em comprimento de onda de 270 nm, 365 nm ou 370 nm, embora detecção em 280 e 350 nm também sejam possíveis (Huber; Rodriguez-Amaya, 2008; Ássimos, 2014).

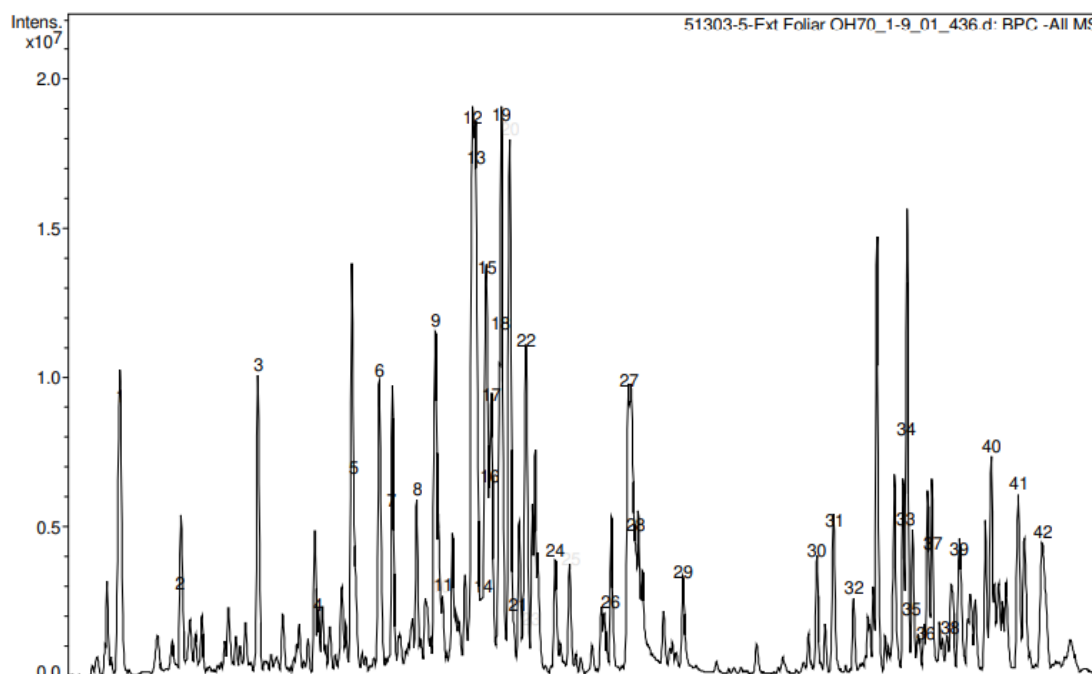


Figura 1. Cromatograma do extrato hidroalcolólico das folhas de *Anacardium occidentale* L.

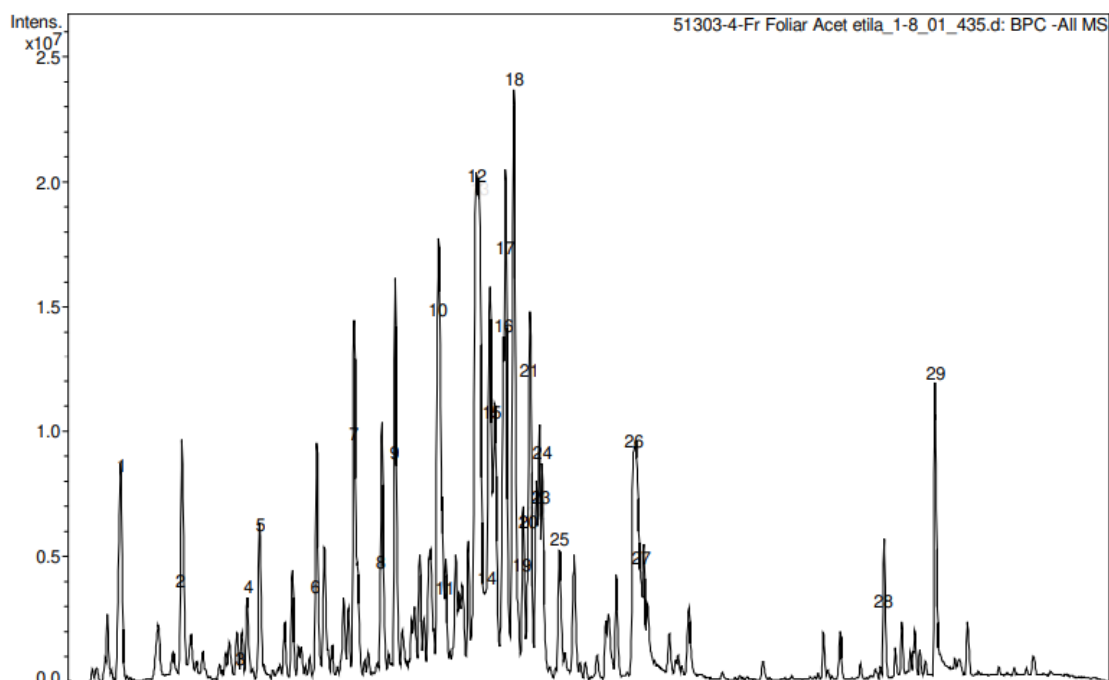


Figura 2. Cromatograma da fração acetato de etila das folhas de *Anacardium occidentale* L.

Os dados espectrais de massas obtidos por CLAE-EM agregaram mais

conhecimentos sobre a composição do extrato bruto de *A. occidentale* (Figuras 1 e 2). Na identificação estrutural dos compostos, os resultados provenientes das análises no modo de ionização negativo e comparação com os bancos de dados do *MassBank*, foram observados 42 picos (íons moleculares) para o extrato bruto hidroalcolico (Anexo B), e 29 picos para a fração acetato de etila (Anexo B), no comprimento de onda 254 nm, dentre os quais 16 foram identificados como compostos fenólicos pertencentes a uma variedade de classes de produtos naturais.

Tabela 4. Compostos identificados a partir do extrato hidroalcolico das folhas de *Anacardium occidentale* L.

Pico	Tempo de retenção (min)	Massa [M-H]	Íons fragmentados MS/MS	Nome do Composto	Referência
1	3,8	347	165	-	
2	8,1	289,08	259,73	-	
3	13,9	451,20	405; 287	Proanthocyanidin tetramer	Kajdžanoska, Marina; GJamovski, Viktor; Stefova, Marina, 2010.
4	18,2	451,23	405	-	
5	20,8	557,25	268; 557	-	
6	22,7	417,06	190	Gnaphaliol glucopiranosídeo	Kramberger <i>et al.</i> , 2020
7	23,6	497,16	312,19	-	
8	25,5	567,24	341	-	
9	26,8	479,08	316	Miricetina-3-O-(2" -O-galoil) glicosídeo	Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015; Dou <i>et al.</i> , 2007; Regazzoni <i>et al.</i> , 2013; SHUKRI; ALAN, 2010; Rodriguez-Perez <i>et al.</i> , 2013; Simirgiotis <i>et al.</i> , 2013; Gouveia e Castilho, 2010
10	27,2	522,73	503	-	
11	27,3	521,28	503	-	
12	29,5	463,08	299	Isoquercetin, quercetin 7-O-glucoside b	
13	29,8	463,09	299	Quercetin O-hexosídeo 1	GU, Dongyu <i>et al.</i> , 2012
14	30,3	433,09	299,57	Quercetina-3-O-D-xylopyranoside	Dos Santos <i>et al.</i> , 2018
15	30,5	433,06	299,55	Quercetina-3-O-D-xylopyranoside	Dos Santos <i>et al.</i> , 2018
16	30,7	521,24	268,17	-	
17	30,8	433,07	299,54	Quercetina-3-O-D-xylopyranoside	Dos Santos <i>et al.</i> , 2018
18	31,5	433,07	299,57	Quercetina-3-O-D-xylopyranoside	Dos Santos <i>et al.</i> , 2018

19	31,6	447,08	282,78	Kaempferol hexose	Li C, Seeram, 2018
20	32,2	447,09	282,80	Kaempferol hexose	Li C, Seeram, 2018
21	32,8	417,08	281,79	-	
22	33,4	417,07	282,78	-	
23	33,7	447,10	282,83	Kaempferol hexose	Li C, Seeram, 2018
24	35,5	603,06	299,57	-	
25	36,6	447,14	314,25		
26	39,5	539,14	307,97		
27	40,9	537,11	375,03	Amentoflavone	Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015; Baggett <i>et al.</i> , 2005
28	41,3	537,12	375,03	Amentoflavone	Pereira <i>et al.</i> , 2015
29	44,8	537,13	375,02	Amentoflavone	Pereira <i>et al.</i> , 2015
30	54,6	721,49	675,44	-	
31	55,9	559,37	513,32	-	
32	57,3	699,48	653,45	-	
33	61,1	601,46	345,20	-	
34	61,1	533,56	251,62	-	
35	61,5	278,92	278	-	
36	62,6	681,52	649,49	-	
37	63,1	341,18	295,58	-	
38	64,3	758,69	712,67	-	
39	65,0	959,83	913,82	-	
40	67,3	443,39	443,37	-	
41	69,3	471,44	155,03	-	
42	71,1	842,90	438,42	-	

NI: Não identificado.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Foram comparadas as abundâncias relativas dos íons fragmentos obtidos para cada pico cromatográfico, e seus constituintes químicos identificados (Tabelas 4 e 5) a partir dos espectros representativos (Anexo B).

O íon de molécula desprotonada de m/z 433 foi atribuído à quercetina-3- O -D-xilopiranosídeo e ao produto de íon de m/z 299, devido à perda neutra de pentosídeo.

O composto 23 produziu o íon $[M-H]$ de m/z 585 e foi identificado provisoriamente como quercetina-3- O -galoil pentosídeo por seu íon de produto MS/MS m/z 299, indicando a existência de uma fração quercetina. Os compostos 16, 18 e 22 foram ainda identificados provisoriamente como kaempferol-3- O -hexosídeo com base no intenso íon produto MS/MS em m/z 282.

Tabela 5. Compostos identificados a partir da fração acetato de etila das folhas de *Anacardium occidentale* L.

Número do pico	Tempo de retenção (min)	Massa [M-H]	Íons fragmentos MS/MS	Nome proposto	Referência
1	3,9	347	165,47	-	
2	8,1	352,94	289,06	-	
3	12,4	144,56	-	-	
4	13	651,15	324,75	Dímero hexosídeo de ácido p-cumárico	Serbetci; Gulcin, 2010
5	13,9	451,20	405,16; 287,05	Proantocianidina tetramer	Kajdžanoska, Marina; GJamovski, Viktor; Stefova, Marina, 2010.
6	17,9	453,10	326,84; 282,87	-	
7	20,6	557,25	268,17	-	
8	22,6	395,01	190,61	Gnaphaliol glucopiranosídeo	Kramberger <i>et al.</i> , 2020
9	23,6	497,16	312,19	-	
10	26,7	479,08	316,29	Miricetina-3-O-(2" - O-galoil) glicosídeo	Abu-Reidah <i>et al.</i> , 2015; Dou <i>et al.</i> , 2007; Regazzoni <i>et al.</i> , 2013; SHUKRI; ALAN, 2010; Rodriguez-Perez <i>et al.</i> , 2013; Simirgiotis <i>et al.</i> , 2013; Gouveia e Castilho, 2010
11	27,2	521,26	503,21	-	
12	29,5	463,08	299,55	Isoquercetrin, Quercetin 7-O-glucoside b	Sirotkin; Kolesarova, 2022
13	29,8	463,08	299,55	Quercetin O-hexosídeo 1	GU, Dongyu <i>et al.</i> , 2012
14	30,3	433,09	299,57	Quercetina-3-O-D-xylopyranoside	Dos Santos <i>et al.</i> , 2018
15	30,6	433,05	299,55	Quercetina-3-O-D-xylopyranoside	Dos Santos <i>et al.</i> , 2018
16	31,5	447,08	281,81	Kaempferol hexose	Li C, Seeram, 2018
17	31,6	433,07	299,56	Quercetina-3-O-D-xylopyranoside	Dos Santos <i>et al.</i> , 2018

18	32,2	447,08	282,81	Kaempferol hexose	Li C, Seeram, 2018
19	32,8	417,07	281,77	-	
20	33,3	493,11	330,89	6- Methoxyquercetin- 7-O-glucoside	Park; Kim; Kim, 2000
21	33,4	417,07	282,78	-	
22	33,8	447,09	282,82	Kaempferol hexose	Li C, Seeram, 2018
23	34,2	585,12	299,57	Quercetina-3-O- galloyl-pentoside	Li C, Seeram, 2018
24	34,3	417,07	282,79	-	
25	35,5	603,06	299,56	-	
26	40,9	537,11	375,03	Amentoflavone	Pereira <i>et al</i> , 2015
27	41,4	537,12	375,03	Amentoflavone	Pereira <i>et al</i> , 2015
28	28,9	645,50	577,49	-	
29	62,7	409,30	335,15	-	

NI: Não identificado.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Os cromatogramas do extrato bruto hidroalcolico e fração acetato de etila demonstraram ter similaridade no perfil, tendo notado apenas diferença na intensidade dos picos de acordo com o comprimento de onda observado. As propostas estruturais dos compostos foram realizadas com base nos fragmentos, abundância relativa e comparação com dados da literatura das estruturas dos polifenólicos identificados (Figura 3).

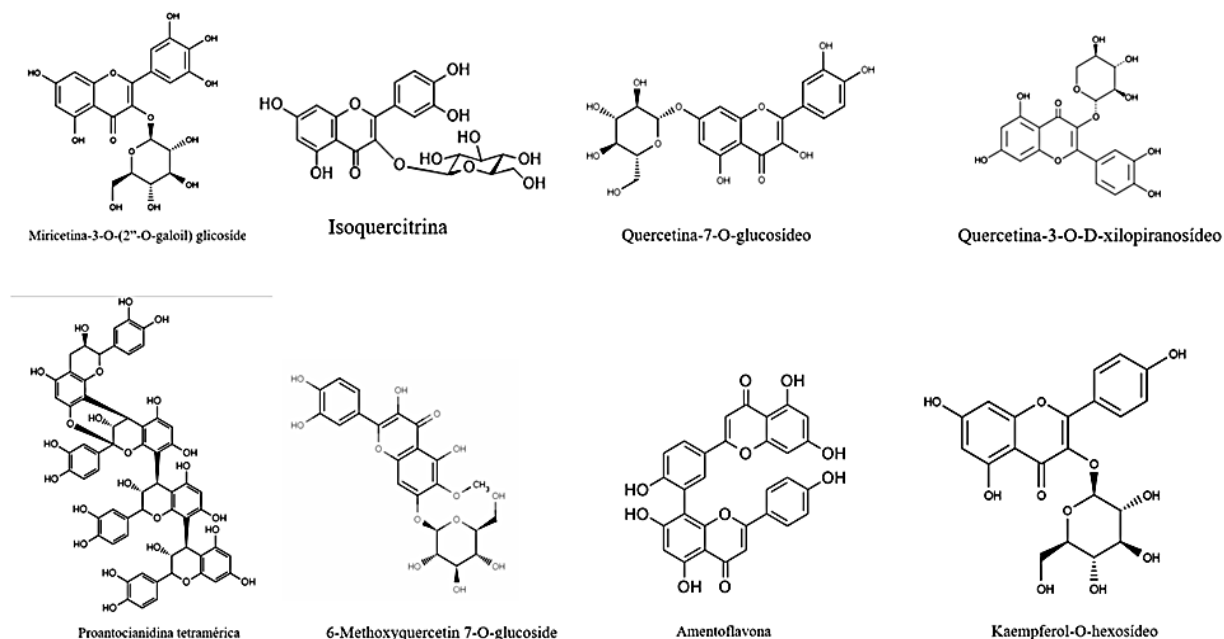


Figura 3. Estruturas dos compostos identificados a partir do extrato bruto e fração acetato de etila das folhas de *Anacardium occidentale* L.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

O íon $[M-H]^-$ de m/z 651 mostrou fragmento MS/MS em m/z 324 sugerindo a identificação da substância como hexosídeo de ácido p-cumárico, o qual corresponde a um ácido hidroxicinâmico conjugado a uma hexose (Silva *et al.*, 2019). Sendo relacionado com a atividade antioxidante e anti-inflamatória em produtos naturais, este possui a capacidade de diminuir o risco de desenvolvimento de vários tipos de câncer, como câncer de estômago (Şerbetcı; Gulçin, 2010). A identificação desses metabólitos contribuiu para a elucidação da alta capacidade bioativa apresentada no extrato bruto e fração acetato de etila das folhas de *A. occidentale*.

Em estudo realizado por Sassi *et al.* (2022), a composição química encontrada nas folhas de *A. occidentale* foi de ácido gálico, caféico e ferúlico, além da presença de ácido sinapínico. As concentrações presentes na amostra

revelam teores acima de 8 mg GAE/g em relação a curva de calibração feita na análise. Os valores apresentados mostram uma significativa quantidade de polifenóis totais, bem como flavonóides, assim como foi observado em nosso estudo, e conseqüentemente, boa atividade antioxidante. A concentração de taninos presentes também está associada à atividade antimicrobiana (Santos, 2011).

A fração acetato de etila sugere ter a melhor ação antioxidante e bactericida (Marínez *et al*, 2012; Baptista *et al*, 2018; Pham *et al*, 2023) dentre os extrativos analisados. Isso refere-se aos compostos fenólicos identificados na amostra (Tabelas 4 e 5). Foi relatado que esses compostos isolados de outras fontes possuem efeitos farmacológicos potentes, como atividades antibacterianas, anticancerígenas, antioxidantes, antidiabéticas e antiinflamatórias (Devi & Muthu, 2014; Viswanathan & Sheeba Gnanadeebam, 2015; Chan *et al.*, 2016; Khan & Javaid, 2022; Tleubayeva *et al.*, 2022).

3.4 Extratos apresentaram baixa toxicidade celular e em modelo *in vivo* alternativo

A atividade hemolítica foi testada utilizando uma suspensão de eritrócitos. O extrato e frações apresentaram níveis mínimos de toxicidade, incluindo todas as concentrações analisadas (Tabela 6).

Tabela 6. Avaliação hemolítica do extrato bruto hidroalcolico e frações de *Anacardium occidentale* Linn.

Extrato e frações	Hemólise CE ₅₀ (µg/mL)
Extrato bruto	2196±0,05651 ^a
Acetato de etila	2281±0,03922 ^a
Clorofórmio	4979±0,08109 ^b
Hexano	1799±0,05037 ^a
Resina	8863±0,04674 ^c

Concentração eficiente para hemolisar 50% de hemácias (CE₅₀). Valores com letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa (Teste de Tukey p<0,05).

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

No perfil de hemólise do extrato bruto e frações das folhas de *A. occidentale*, percebe-se que a concentração eficiente para hemolisar 50% das hemácias (CE₅₀) variou entre 1799 e 8863 µg/mL. O extrato bruto e a fração

acetato de etila não apresentaram diferenças significativas entre si. A resina foi a que apresentou a maior CE_{50} , sendo considerada a fração com maior capacidade de favorecer a hemólise, enquanto a fração hexânica obteve a menor CE_{50} .

Resultados encontrados por Chaves de Araújo *et al.* (2018) apoiam nossos achados, demonstrando que o extrato de *A. occidentale* exibiu atividade hemolítica mínima em concentrações de 1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g/mL}$. Em seu estudo, isso foi atribuído à presença de taninos, uma vez que a funcionalidade biológica das células sanguíneas permaneceu intacta, mantendo a integridade da membrana celular.

Segundo estudo desenvolvido por Firmo (2018), avaliando a atividade hemolítica de *A. occidentale* e mais 7 espécies vegetais, esta obteve a menor CE_{50} . Barbosa Filho *et al.* (2014) verificaram que os resultados da investigação do efeito de espécies do gênero *Anacardium*, em diferentes concentrações sobre a hemólise não indicaram diferenças significativas no tratamento com as frações etanólica, metanólica e acetato de etila. Araújo *et al.* (2018) verificaram que o extrato de *A. occidentale* não apresentou atividade hemolítica mesmo em altas concentrações (1000 mg/mL).

Em relação às larvas de *T. molitor*, a taxa média de sobrevivência em relação à concentração de 4000 $\mu\text{g/mL}$ utilizada aponta que as frações acetato de etila, hexânica, clorofórmica e resina apresentaram-se com 80%, seguida de extrato bruto (70%). Todas as amostras apresentaram a mesma taxa de sobrevivência na concentração de 500 $\mu\text{g/mL}$ (100%).

Extrato bruto ($p=0,1278$) (Figura 4A), Acetato de etila ($p=0,3553$) (Figura 4B), Hexano ($p=0,6242$) (Figura 4C), Clorofórmio ($p=0,2345$) (Figura 4D), e Resina ($p=0,4137$) (Figura 4E), não apresentaram diferenças significativas em relação ao controle negativo, sugerindo que essas frações não apresentam toxicidade em larvas de *T. molitor* (Figura 4).

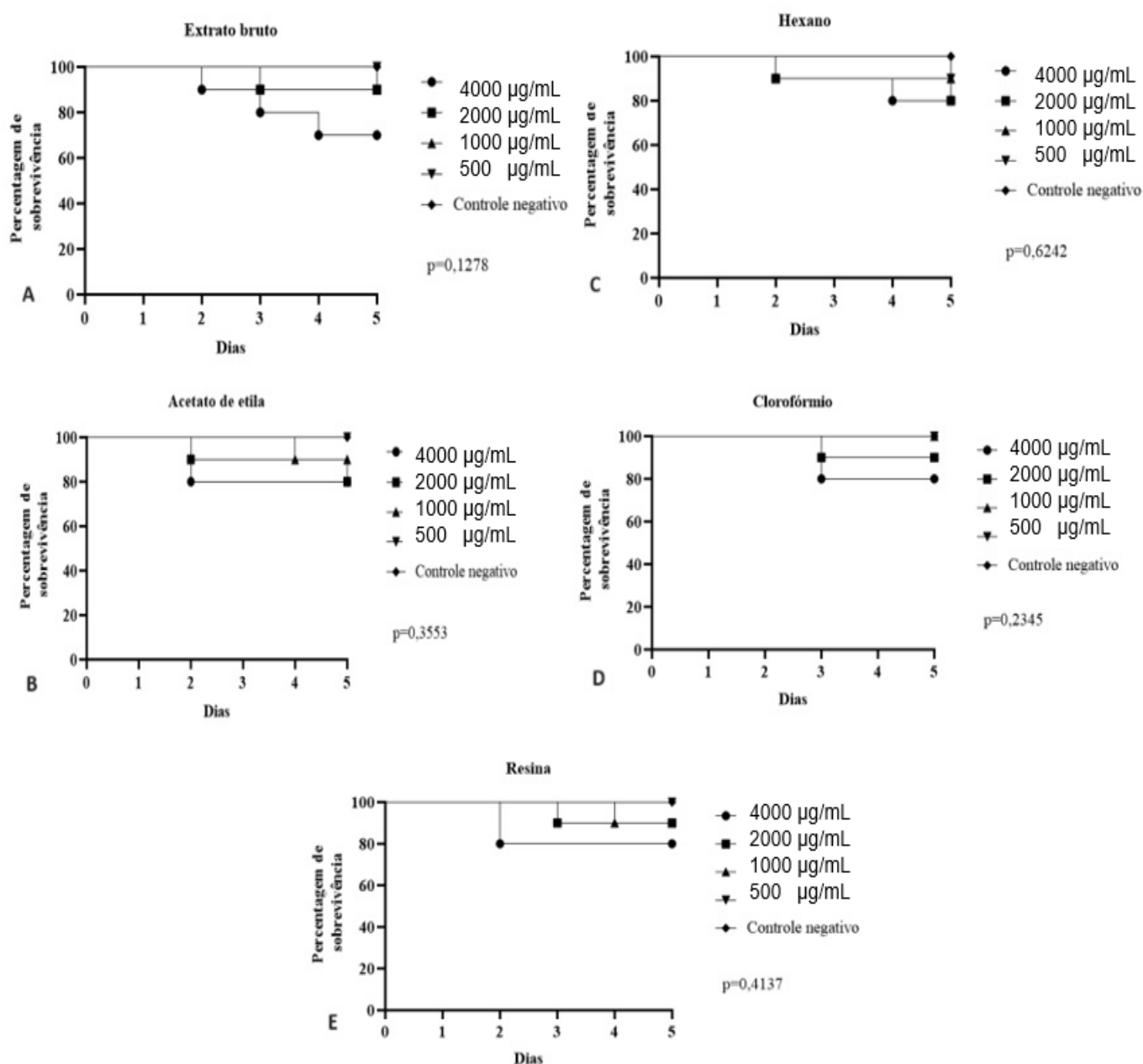


Figura 4. Porcentagem de sobrevivência de larvas de *Tenebrio molitor* após a injeção do extrato bruto e frações de *Anacardium occidentale* Linn.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Segundo Firmo (2018), *A. occidentale* L. não causa uma mortalidade significativa ($p=0,1307$) nas concentrações de 1000 a 5µg/mL, quando comparado com o controle, sugerindo que o extrato bruto hidroalcoólico nestas concentrações não é tóxico para *T. molitor*, o que corrobora com os resultados encontrados no presente estudo de que a espécie vegetal não apresenta toxicidade nesse modelo *in vivo*.

Ribeiro *et al.* (2021) avaliaram os perfis de sobrevivência das larvas de *T. molitor* quando submetidas ao contato com líquido da casca da castanha de caju (LCC) e o cardanol (CN). Os resultados demonstraram, após 48 h, que as taxas de sobrevivência das larvas frente ao LCC, foram aproximadamente 85%, 75% e 60% nas doses de 3, 30 e 300 mg/Kg, respectivamente, enquanto as taxas de sobrevivência frente ao CN foram aproximadamente 85%, 60% e 40% nas doses de 3, 30 e 300 mg/Kg, demonstrando-se toxicidade aguda significativa desta substância. O LCC apresentou menor toxicidade sobre *T. molitor* que o CN, sugerindo-se um efeito sinérgico dos compostos presentes no LCC, conferindo ao mesmo uma menor toxicidade, quando comparado ao CN isolado.

No entanto, Isman (2006) destaca que a toxicidade pode estar diretamente ligada a espécies de insetos, fase de desenvolvimento e condições do experimento. Além disso, o desenvolvimento do *T. molitor* pode ser afetado por alguns fatores extrínsecos como a temperatura, umidade e o substrato utilizado (Spang, 2013).

O crescente perfil de resistência aos medicamentos convencionais e a toxicidade de altas doses destacam a importância do desenvolvimento de novas alternativas para o tratamento de doenças ocasionadas por bactérias. *A. occidentale* tem sido utilizada em preparações tradicionais para o tratamento de doenças (Quejada *et al.*, 2024). No presente estudo, o extrato etanólico e as frações hexânica, clorofórmica e acetato de etila de folhas de *A. occidentale* contendo vários flavonoides, e tendo a quercetina como composto majoritário, inibiram o crescimento e a proliferação de *S. aureus* em concentrações variáveis entre 1 mg/mL e 2 mg/mL. Além disso, o extrato não apresentou toxicidade *in vivo* a larvas de *Tenebrio molitor* ou atividade hemolítica nas concentrações testadas. Esta atividade biológica, além da baixa toxicidade, demonstrada podem estar relacionadas aos flavonóides nela presentes. Esta investigação amplia o conhecimento atual de medicamentos botânicos como uma alternativa potencial para o combate de doenças induzidas por microrganismos.

4 CONCLUSÃO

Este estudo sugere que a fração de acetato de etila do extrato de folhas de *A. occidentale* têm potencial como referência para aplicações farmacêuticas,

particularmente como antimicrobiano frente *S. aureus* (ATCC 25923), apresentando flavonoides como seu componente majoritário, além de demonstrar segurança nos testes de toxicidade empregados.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, C., et al. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 17, n. 4, p. 320-329, 2012.
- AJILEYE, O. O.; OBUOTOR, E. M.; AKINKUNMI, E. O.; ADEROGBA, M. A. Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae) leaf extract. **Journal of King Saud University – Science**, v. 27, n. 3, p. 244-252, 2015.
- ALVES, E.G. et al. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. **Química Nova**, Franca, v. 31, n. 5, p.1224-1229, 2008.
- APONJOLOSUN, S. B.; FASOLA, R. T. Phytochemical, Antimicrobial and Toxicity Evaluation of *Anacardium occidentale* Linn. **Leaf Extracts. Trop. J. Nat. Prod. Res.** v. 4, n. 4, p. 113-122, 2020.
- ÁSSIMOS, A. A. **Avaliação da Concentração e dos Tipos de Flavonoides na Própolis Utilizando Métodos Quimiométricos de Classificação e Calibração**. 2014. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Araraquara, 2014.
- ARAÚJO, J. S. C. et al. Antibacterial activity against cariogenic bacteria and cytotoxic and genotoxic potential of *Anacardium occidentale* L. and *Anadenanthera macrocarpa* (Benth.) Brenan extracts. **Archives of Oral Biology**, v. 85, p. 113-119, 2018.
- ASSUNÇÃO, R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium occidentale* L.): variety and geographic effects. **Food Chemistry**, v. 81, n. 4, p.495–502, 2003. DOI:10.1016/s0308-8146(02)00477-6.
- BAPTISTA, A; GONÇALVES, R. V.; BRESSAN, J., PELUZIO, M. 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. **Oxid. Med. Cell Longev.** v. 2018, n. 3753562, p. 1-13, 2018.
- BARBOSA FILHO, V. M. **Avaliação do potencial antioxidante e antibacteriano de *Anacardium microcarpum* e sua toxicidade em diferentes modelos biológicos in vitro**. 2015. 83 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.
- BIANCHINI, R. F. Processamento de plantas medicinais. **Caderno Técnico-Didático**, Associação Catarinense de Plantas Medicinais (ACPM), v. 1, p. 47-54, out. 2011

BONA, E. A. M. et al. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. **Arq. Inst. Biol.**, v. 81, n. 3, p.218-225, 2014.

CARDOSO C. I.; SILVA, D. H. S; YOUNG, M. C. M.; CASTRO-GAMBOA, I., BOLZANI, V. S. Indole monoterpene alkaloids from *Chimarrhis turbinata* DC Prodr.: a contribution to the chemotaxonomic studies of the Rubiaceae family. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 18, n. 1, p. 26-29, 2008.

CHOZE, R; Delprete, P. G., LIÃO, L. M. Chemotaxonomic significance of flavonoids, coumarins and triterpenes of *Augusta longifolia* (Spreng.) Rehder, Rubiaceae-Ixoroideae, with new insights about its systematic position within the family. **Braz. J. Pharmacogn.**, v. 20, n. 3, p.295-299, 2010.

CECHINEL FILHO, V; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

CHABI, S. K. et al. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* L. leaves and barks extracts on pathogenic bacteria. **Afr. J. Microbiol. Res.** v. 8, n. 25, p. 2458-2467, 2014.

CHAN, W. et al. Nerolidol: A sesquiterpene alcohol with multi- faceted pharmaco-logical and biological activities. **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 529, 2016.

COSTA, F. V. **Influência de fatores ambientais na produção de metabólitos secundários de *Calea pinnatifida* (R.Br.) Less. (Asteraceae).** 2017. 128 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Santa Catarina, 2017.

COSTA et al. Influence of abiotic factors on phytochemical diversity of *Anacardium occidentale* L. **Food Bioscience**, v. 49, n.1, 2022. 101911. ISSN 2212-4292.

DEVI, J.; MUTHU, A. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of bioactive constituents in the ethanolic extract of *Saccharum spontaneum* Linn. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, v. 6, n. 2, p. 755-759, 2014.

DIAS-SOUZA, M. V.; SANTOS, R. M. dos; SIQUEIRA, E. P. de; FERREIRA-MARÇAL, P. H. Antibiofilm activity of cashew juice pulp against *Staphylococcus aureus*, high performance liquid chromatography/diode array detection and gas chromatography-mass spectrometry analyses, and interference on antimicrobial drugs. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 25, n. 3, p. 589–596, 2017.

DOSS, V. A., Thangavel KP. Antioxidant and antimicrobial activity using different extracts of *Anacardium occidentale* L. **Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.** v. 2, n. 3, p. 436-443, 2011.

EVANS, W. C. **Trease and Evans: pharmacognosy**. Elsevier Health Sciences, 2009.

FIRMO, Wellyson da Cunha Araújo. **Bioprospecção de plantas medicinais do cerrado maranhense com propriedades antioxidante, antibacteriana contra *Corynebacterium* spp e toxicidade: aporte para o desenvolvimento de novos medicamentos**. 2018. 165f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) – Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2018.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FRÓES, Y. N., et al. Chemical Characterization and Leishmanicidal Activity In Vitro and In Silico of Natural Products Obtained from Leaves of *Vernonanthura brasiliiana* (L.) H. Rob (Asteraceae). **Metabolites**. v.13, n. 2, p. 285, 2023.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

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, n. 3, p. 353-358, 2005.

GU, D.; YANG, Y.; ABDULLA, R.; AISA, H. A. Characterization and identification of chemical compositions in the extract of *Artemisia rupestris* L. by liquid chromatography coupled to quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 26, n. 1, p. 83-100, 2012.

HAKME, E.; POULSEN, M. E. Evaluation of the automated micro-solid phase extraction clean-up system for the analysis of pesticide residues in cereals by gas chromatography-Orbitrap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1652, n. 2021, p. 1-11, jun. 2021.

HAZEN, K. C. Fungicidal versus fungistatic activity of terbinafine and itraconazole: An in vitro comparison. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 38, n. 5 p. 37-41, 1998.

HUBER, Lísia Senger; RODRIGUEZ-AMAYA, Delia B. Flavonóis e flavonas: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alimentos e nutrição Araraquara**, v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 45-66, 2006.

KHAN, I., JAVAID, A. Hexane soluble bioactive components of leaf extract of quinoa. **Journal of Animal and Plant Sciences**, v. 32, n. 2, p.309-314, 2022.

KRAMBERGER, K. et al. HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS Determination of Bioactive Compounds and Antioxidant Activity Comparison of the Hydroalcoholic and

Water Extracts from Two *Helichrysum italicum* Species. **Metabolites**, v. 10, n. 10, p. 2-26, 2020.

KUBO I., NITODA, T.; TOCOLI, F. E.; GREEN I. R. Multifunctional cytotoxic agents from *Anacardium occidentale*. **Phytotherapy Research**, v. 25, n. 1, p. 38-45, 2011. Doi.org/10.1002/ptr.3109, 2-s2.0-78650673531.

LI, C.; SEERAM, N. P. Ultra-fast liquid chromatography coupled with electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry for the rapid phenolic profiling of red maple (*Acer rubrum*) leaves. **J. Sep. Sci.**, v. 41, n. 11, p. 2331-2346, 2018.

LUCENA, V. M. X. **Diversidade genética entre genótipos de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e qualidade do fruto e pseudofruto**. 2006. 91 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais) – Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, 2006.

MADIGAN, M.; BENDER, K.; BUCKLEY, D.; STAHL, D. **Brock Biology of Microorganisms**. 15. ed. 1056 p. 2017. ISBN 978-0134261928.

MARQUES, N. F. Q. **Avaliação teratológica da exposição da *Morinda citrifolia* Linn em ratas wistar**. 2009. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

RAMOS MARQUES, G.; CARLA CAMPLES, A.; TINUCCI COSTA, M. Resistência Bacteriana na Medicina Veterinária e sua relação com a Saúde Pública. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 30, p. 1–12, 2023.

MATOS, F. J. de A. **Introdução à fitoquímica experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 1997.

MELETIADIS, J. et al. Differential fungicidal activities of amphotericin B and voriconazole against *Aspergillus* species determined by microbroth methodology. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 9, p. 3329–3337, 2007.

MIRANDA, J. A. L. et al. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v. 17, n. 4, p. 1142-1149, 2015.

MNYANDU, H. M.; MAHLAMBI, P. N. Optimization and application of QuEChERS and SPE methods followed by LC-PDA for the determination of triazines residues in fruits and vegetables from Pietermaritzburg local supermarkets. **Food Chemistry**, v. 360, n. 129818, p. 1-8, out. 2021.

MUSSIN, J.; GIUSIANO, G. Ethno-phytopharmacology: product validation process based on traditional knowledge of medicinal plants. In: CHONG, P., NEWMAN, D., STEINMACHER, D. (eds.) **Agricultural, forestry and bioindustry biotechnology and biodiscovery**. Cham: Springer, 2020. p. 331-353.

NUNES, M. R.; ALVES FILHO, J. G.; CRUZ, R. S.; COLARES, G. B. Evaluation of the antibacterial activity of cashew seed pellicle (*Anacardium occidentale* L.). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, p. e27611821716, 2022.

PARK, E. J.; KIM, Y.; KIM, J.. Acylated flavonol glycosides from the flower of *Inula britannica*. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 1, p. 34-36, 2000.

PEREIRA, A.V. et al. Taninos da casca do Cajueiro: atividade antimicrobiana. **Revista Agropecuária Técnica**, v. 36, n.1, p. 121-127, 2015.

PFALLER, M. A.; SHEEHAN, D. J.; REX, J. H. Determination of fungicidal activities against yeasts and molds: Lessons learned from bactericidal testing and the need for standardization. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 2, 268-280, 2004.

PHAM, D. C. et al. Fractionation, identification of chemical constituents, and biological properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaf ex tracts. **Food Science & Nutrition**, v. 11, n. 12, p. 7669-8008, 2023.

PILON, A. C. et al. Redes moleculares: Uma análise sobre anotações e descoberta de novos ativos. *Química Nova*, v. 44, p. 1168- 1179, 2021.

PINHO, L. et al. Antimicrobial activity of hydroalcoholic extracts from rosemary, peppertree, barbatimão and erva baleeira leaves and from pequi peel meal. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 326-331, 2012.

QUEJADA, L. F. et al. Unmasking the Antifungal Activity of *Anacardium occidentale* Leaf Extract against *Candida albicans*. **J. Fungi (Basel)**, v.10, n.7, p.464, 2024.

REMPEL, C. et al. Efeito antimicrobiano de plantas medicinais: uma revisão de estudos científicos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 4, p. 57-82, 2019.

RIBEIRO, L.M. M. **Líquido da casca da castanha do caju (*Anarcadium occidentale* L.) (LCC) e seus principais constituintes: atividades anti-leishmania, toxicológica e imunomoduladora**. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Aplicadas a Animais de Interesse Regional. Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2021.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C.; VILLAW, A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. **Journal of Ethnopharmacology**, Burjassot, v. 23, n. 2-3, p. 127-149, 1988.

ROCHA, C. Q. da et. al. Gastroprotective effects of hydroethanolic root extract of *Arrabidaea brachypoda*: Evidences of cytoprotection and isolation of unusual glycosylated polyphenols, **Phytochemistry**, v.135, p. 93-105, 2017.

SÁ JUNIOR, P. F. de, MUNIZ, E. B.; PEREIRA, N. A.; OLIVEIRA, M. A. S. Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos aquosos, hidroalcoólicos e alcoólicos de espécies da família Anacardiaceae. **Revista De Ciências Médicas E Biológicas**, v. 15, n. 1, p. 56-61, 2016.

SADATI, R., SHAYKH-BAYGLOO, N.; SHOKRI, R. Antibacterial activity of Lake Urmia derived-*Halomonas*. **Veterinary research forum: an international quarterly journal**, v. 14, n. 9, p. 515-523, 2023.

SALEHI, B. et al. *Anacardium* Plants: Chemical, Nutritional Composition and Biotechnological Applications. **Biomolecules**, v. 9, n. 9, p. 465, 2019.

SALERNO, A. R.; SILVA JUNIOR, A. A.; AGOSTINI, I. Manejo de Plantas Medicinais. **Caderno Técnico-Didático**. Associação Catarinense de Plantas Medicinais (ACPM), v.1, p. 24-46, 2011.

SANTOS, C. dos. Antioxidative, Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Phenolic Compounds from Three *Myrcia* Species. **Molecules**, v. 23, n. 5; 2018.

SANTOS, F. OI. **Atividades biológicas do *Anacardium occidentale* (Linn)** 2011. 57 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-árido – Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2011.

SANTOS, F. O. et al. Antibacterial evaluation of *Anacardium occidentale* (Linn) (Anacardiaceae) in semiarid Brazil. **African Journal of Biotechnology**, v. 12, n. 30, p. 4836-4840, 2013.

SASSI, A. et al. Analysis of phenolic profile, total phenolic content and antioxidant activity in *Anacardium occidentale* leaves. **Food Research**, v. 6, n. 1, p. 20-26, 2022.

ŞERBETCI, T.; H.; GÜLÇİN, I. Antioxidant and radical scavenging activity of aerial parts and roots of Turkish liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). **Internacional Journal of Food Properties**, v. 13, p. 657-671, 2010.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio de técnicas anatômicas, foi possível caracterizar as folhas de *A. occidentale* L., além de fornecer dados importantes para possibilitar a análise de autenticidade deste produto vegetal. Tais métodos favoreceram a identificação, bem como auxiliaram no processo de controle de qualidade da espécie.

A análise química do extrato e frações evidencia a presença de metabólitos secundários, como flavonoides, saponinas, fenois e taninos, com importante atividade biológica. Diante disso, evidencia seu potencial terapêutico e fitoquímico.

Seu extrato e frações revelam baixos níveis tóxicos, o que conferem segurança e maior confiabilidade, ao impulsionar e direcionar o desenvolvimento de novas terapias antimicrobianas.

O presente estudo fornece dados que demonstram a atividade bactericida e bacteriostática de *A. occidentale* L. e que este apresenta baixa toxicidade, tendo como destaque a fração acetato de etila, representando uma potencial matéria-prima para desenvolvimento de formulações farmacêuticas com ação antibiótica.

PERSPECTIVAS FUTURAS

- Isolamento e identificação de moléculas que exercem a atividade antimicrobiana presentes na matriz vegetal;
- Ensaios microbiológicos com a(s) substância(s) identificada(s);
- Obtenção de formulação farmacêutica com a fração mais ativa;
- Controle microbiológico e testes da estabilidade e eficácia da formulação obtida;
- Ensaios pré-clínicos e clínicos com a formulação desenvolvida.

ANEXOS

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DO
MARANHÃO - UNICEUMA**



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa:

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA CONTRA AMOSTRAS DE *Corynebacterium* spp E INIBIÇÃO DA HEMAGLUTINAÇÃO POR PLANTAS MEDICINAIS DO CERRADO MARANHENSE

Pesquisador: Wellyson Firmo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 59213616.9.0000.5084

Instituição Proponente: Centro Universitário do Maranhão - UniCEUMA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.732.522

Apresentação do Projeto:

O gênero *Corynebacterium* é composto por mais de 100 espécies. *Corynebacterium* spp., têm sido citadas com frequência aumentada como patógenos de infecções nosocomiais associadas à sepse, endocardite, infecções de feridas cirúrgicas, próteses e infecções relacionadas ao cateter venoso central, o que está relacionado a capacidade do micro-organismo de expressar diferentes fatores de virulência. Variações geográficas na frequência das espécies isoladas e na resistência antimicrobiana natural e adquirida já foram descritas. As plantas medicinais correspondem às mais antigas “armas” empregadas pelo homem no tratamento de enfermidades. Nas últimas décadas houve um crescente interesse pelo uso de plantas medicinais e dos respectivos extratos na terapêutica, incluindo sua aplicação na inibição dos fatores de virulência. Nesse sentido, o trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antibacteriana de extratos de plantas medicinais do cerrado maranhense contra *Corynebacterium* spp. e a capacidade de inibirem a hemaglutinação.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

- Avaliar a atividade antibacteriana de extratos de plantas medicinais do cerrado maranhense contra *Corynebacterium* spp., e a capacidade de inibirem a hemaglutinação.

Endereço: DOS CASTANHEIROS

Bairro: JARDIM RENASCENÇA

CEP: 65.075-120

UF: MA

Município: SÃO LUIS

Página 01 de 03

Telefone: (98)3214-4212

Fax: (98)3214-4212

E-mail: cep@ceuma.br



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO MARANHÃO - UNICEUMA



Continuação do Parecer: 1.732.522

Objetivos secundários:

- Investigar a concentração inibitória mínima e a concentração bactericida mínima dos extratos frente às espécies de *Corynebacterium*;
- Analisar a citotoxicidade de extratos vegetais sobre hemácias;
- Averiguar os títulos hemaglutinantes de espécies de *Corynebacterium*;
- Determinar a capacidade de inibição da hemaglutinação dos extratos vegetais;
- Verificar a atividade trombolítica dos extratos vegetais.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos são mínimos, consistindo num pequeno desconforto nas doações de sangue para os teste de hemaglutinação e de atividade hemolítica

Benefícios:

Conhecer o perfil odontológico dos pacientes que utilizam o serviço permitirá planejamento de ações políticas públicas e manejo de atendimento específico para a população identificada.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa tem uma importância principalmente na determinação da capacidade antimicrobiana de plantas medicinais

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos estão conforme a resolução nº 466/12 do CNS.

Recomendações:

Melhorar a descrição da análise estatística a ser aplicada nos dados, pois está muito vaga e basicamente descritiva. Falta falar dos testes estatísticos que deverão ser aplicados nos dados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências

Considerações Finais a critério do CEP:

O PESQUISADOR DEVERÁ APRESENTAR RELATÓRIO FINAL DA PESQUISA

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: DOS CASTANHEIROS

Bairro: JARDIM RENASCENÇA

CEP: 65.075-120

Página 02 de 03

UF: MA

Município: SÃO LUIS

Telefone: (98)3214-4212

Fax: (98)3214-4212

E-mail: cep@ceuma.br



CENTRO UNIVERSITÁRIO DO MARANHÃO – UNICEUMA



Continuação do Parecer: 1.732.522

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_756119.pdf	31/07/2016 20:49:53		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	31/07/2016 20:49:18	Wellyson Firmo	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Anuencia.JPG	31/07/2016 20:47:18	Wellyson Firmo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.doc	31/07/2016 20:44:37	Wellyson Firmo	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto.pdf	31/07/2016 20:42:31	Wellyson Firmo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO LUIS, 17 de Setembro de 2016

Assinado por:
Eduardo Durans Figuerêdo
(Coordenador)

Ende

Bairro: JARDIM RENASCENCA

CEP: 65.075-120

Página 03 de 03

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)3214-4212

Fax: (98)3214-4212

E-mail: cep@ceuma.br

ANEXO B – Identificação botânica**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**

Fundação Instituída nos termos da Lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís - Maranhão.

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA - CCBS
HERBÁRIO DO MARANHÃO - MAR**

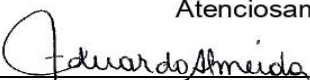
São Luís, 13 de Dezembro de 2022

CONFIRMAÇÃO DE IDENTIFICAÇÃO

Segue abaixo a confirmação da identificação realizada. Desde já agradecemos o envio do material e informamos que o mesmo estará, em breve, devidamente catalogado no acervo do Herbário MAR.

Nº tombo MAR	Coletor (número)	Família	Espécie
13949	SÁ, C.M.A. (01)	ANACARDIACEAE	<i>Anacardium occidentale</i> L.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Eduardo B. de Almeida Jr.
Curador do Herbário MAR

ANEXO C – Dados dos Espectros de massa do extrato bruto hidroalcolico.

Compound Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Amazon\CA-2024\OUTROS\Kiany-UFMA\04-09-24\51303-5-Ext Foliar OH70_1-9_01_436.d
 Method 436.m
 Sample Name 51303-5-Ext Foliar OH70
 Comment

Acquisition Date 06/09/2024 14:51:46

Operator BRUKER

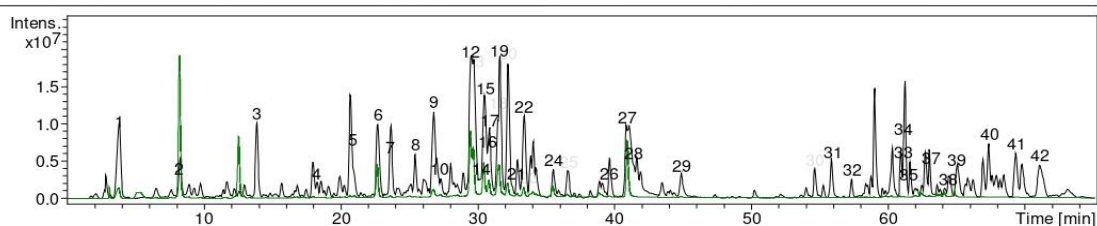
Instrument amaZon speed ETD

Acquisition Parameter

Ion Source Type ESI
 Mass Range Mode UltraScan
 Accumulation Time 10000 μ s
 SPS Target Mass 500 m/z

Ion Polarity Negative
 Scan Begin 100 m/z
 RF Level 71 %
 Averages 10 Spectra

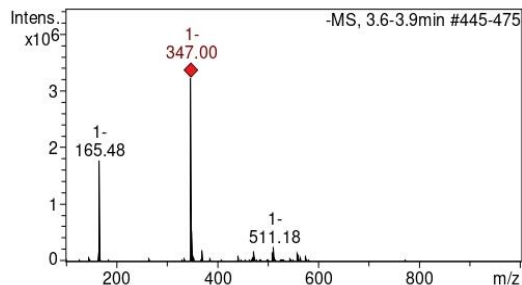
Alternating Ion Polarity off
 Scan End 1000 m/z
 Trap Drive 60.2
 n/a



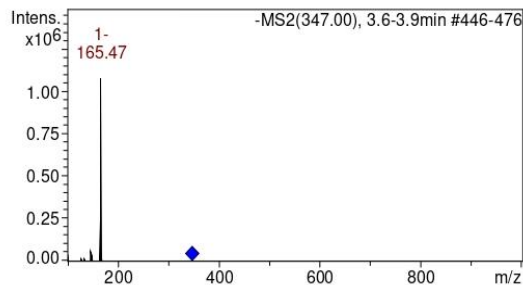
#	RT [min]	Chromatogram	Area	Area %	S/N
1	3.8		n.a.	n.a.	n.a.
2	8.1		n.a.	n.a.	n.a.
3	13.9		n.a.	n.a.	n.a.
4	18.2		n.a.	n.a.	n.a.
5	20.8		n.a.	n.a.	n.a.
6	22.7		n.a.	n.a.	n.a.
7	23.6		n.a.	n.a.	n.a.
8	25.5		n.a.	n.a.	n.a.
9	26.8		n.a.	n.a.	n.a.
10	27.2		n.a.	n.a.	n.a.
11	27.3		n.a.	n.a.	n.a.
12	29.5		n.a.	n.a.	n.a.
13	29.8		n.a.	n.a.	n.a.
14	30.3		n.a.	n.a.	n.a.
15	30.5		n.a.	n.a.	n.a.
16	30.7		n.a.	n.a.	n.a.
17	30.8		n.a.	n.a.	n.a.
18	31.5		n.a.	n.a.	n.a.
19	31.6		n.a.	n.a.	n.a.
20	32.2		n.a.	n.a.	n.a.
21	32.8		n.a.	n.a.	n.a.
22	33.4		n.a.	n.a.	n.a.
23	33.7		n.a.	n.a.	n.a.
24	35.5		n.a.	n.a.	n.a.
25	36.6		n.a.	n.a.	n.a.
26	39.5		n.a.	n.a.	n.a.
27	40.9		n.a.	n.a.	n.a.
28	41.3		n.a.	n.a.	n.a.
29	44.8		n.a.	n.a.	n.a.
30	54.6		n.a.	n.a.	n.a.
31	55.9		n.a.	n.a.	n.a.
32	57.3		n.a.	n.a.	n.a.
33	61.1		n.a.	n.a.	n.a.
34	61.1		n.a.	n.a.	n.a.
35	61.5		n.a.	n.a.	n.a.
36	62.6		n.a.	n.a.	n.a.
37	63.1		n.a.	n.a.	n.a.
38	64.3		n.a.	n.a.	n.a.
39	65.0		n.a.	n.a.	n.a.
40	67.3		n.a.	n.a.	n.a.
41	69.3		n.a.	n.a.	n.a.
42	71.1		n.a.	n.a.	n.a.

Compound Spectrum List Report

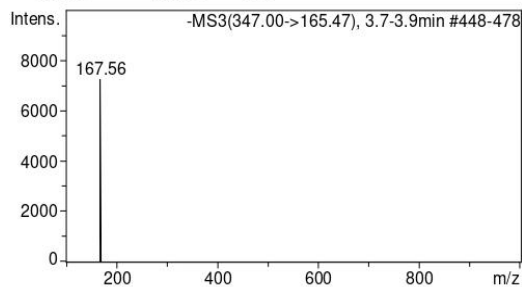
Cmpd 1, AutoMSn(347.00), 3.8 min



m/z	z	I	FWHM
165.48	1-	1773068	0.28
166.53	1-	148738	0.27
347.00	1-	3225529	0.32
347.99	1-	538273	0.28
348.99	1-	109775	0.34
369.03	1-	202512	0.28
471.16	1-	166652	0.29
509.15		153257	0.31
511.18	1-	244696	0.30
559.12		142470	0.31



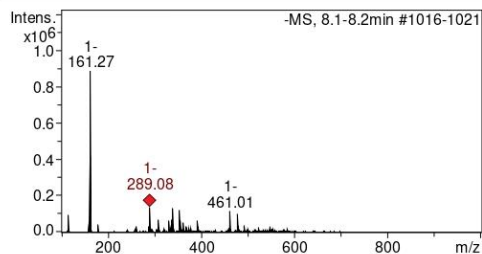
m/z	z	I	FWHM
100.68	1-	36569	0.28
101.71	1-	2793	0.21
119.47		2521	0.19
127.82	1-	16670	0.27
134.09		12633	0.26
146.67	1-	57881	0.28
147.69	1-	3814	0.28
165.47	1-	1075209	0.33
166.49	1-	87267	0.30
167.53	1-	8134	0.26



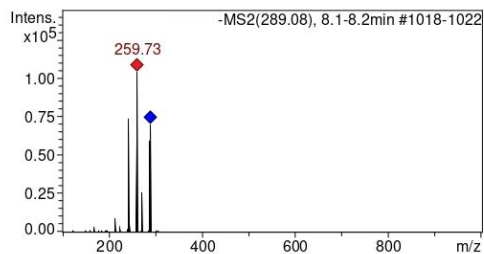
m/z	z	I	FWHM
167.56		7258	0.27

Compound Spectrum List Report

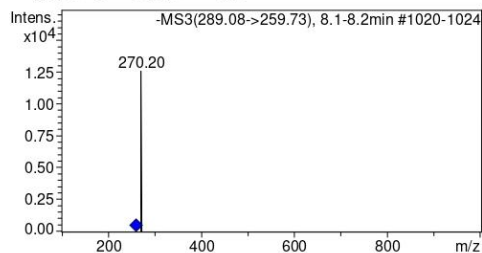
Cmpd 2, AutoMSn(289.08), 8.1 min



m/z	z	I	FWHM
115.29	1-	97041	0.27
161.27	1-	884761	0.29
162.31	1-	67388	0.29
289.07	1-	139884	0.31
307.92	1-	67442	0.28
336.93	1-	69946	0.30
338.93	1-	131239	0.30
352.94	1-	120067	0.30
461.01	1-	114903	0.29
479.02	1-	101349	0.28



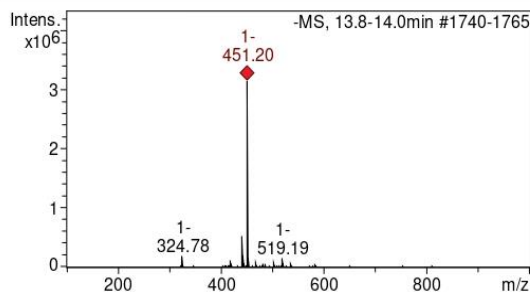
m/z	z	I	FWHM
167.54		3470	0.15
213.66		8659	0.29
224.13		2354	0.27
240.75	1-	1299	0.33
242.95		73737	0.30
259.73		104178	0.23
270.14		25514	0.30
286.94	1-	59557	0.31
287.96	1-	8028	0.27
289.03		70099	0.29



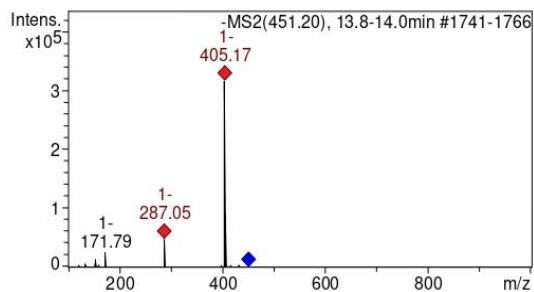
m/z	z	I	FWHM
270.20		12536	0.26

Compound Spectrum List Report

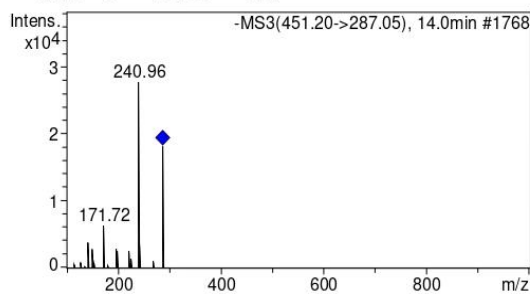
Cmpd 3, AutoMSn(451.20), 13.9 min



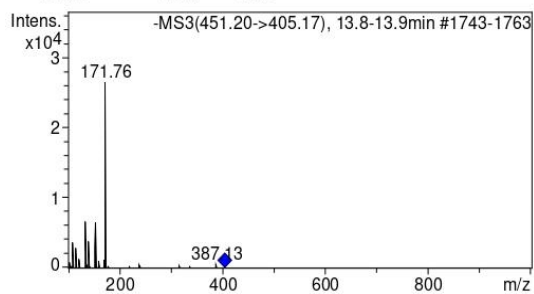
m/z	z	I	FWHM
324.78	1-	181485	0.26
419.14		109884	0.32
441.19	1-	520181	0.30
442.19	1-	116409	0.29
443.18	1-	190127	0.31
451.21	1-	3145258	0.34
452.19	1-	701254	0.32
453.19	1-	155299	0.30
468.18		73196	0.31
519.19	1-	158760	0.31



m/z	z	I	FWHM
121.52		2360	0.16
134.05		4027	0.27
152.92	1-	8817	0.26
171.79	1-	24840	0.28
287.05	1-	47782	0.32
288.05	1-	9309	0.27
405.17	1-	316056	0.31
406.17	1-	58697	0.28
407.17	1-	8107	0.28
432.08		2347	0.23



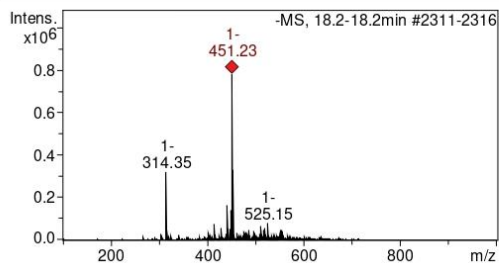
m/z	z	I	FWHM
142.38		3867	0.13
150.75		2890	0.13
171.72		6289	0.15
196.96		2856	0.23
199.07		2538	0.36
222.02		2421	0.18
226.25		1299	0.13
240.96		27729	0.22
287.02		18199	0.19



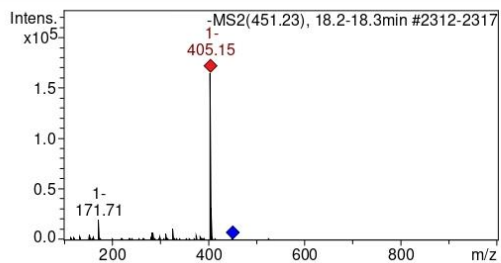
m/z	z	I	FWHM
109.00		3639	0.20
115.24		2829	0.35
121.55		1317	0.26
134.10	1-	6677	0.29
140.26	1-	3718	0.15
152.91	2-	6425	0.30
153.64	2-	2256	0.13
159.24		950	0.14
171.04		1137	0.18
171.76		26486	0.23

Compound Spectrum List Report

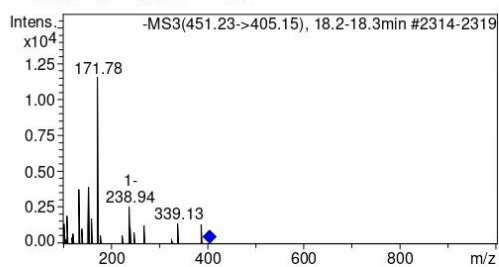
Cmpd 4, AutoMSn(451.23), 18.2 min



m/z	z	I	FWHM
314.35	1-	321163	0.29
415.13	1-	73281	0.29
441.19	1-	163002	0.31
449.22	1-	138139	0.33
451.23	1-	781530	0.32
452.20	1-	171215	0.30
453.13	1-	329219	0.32
454.11	1-	69820	0.31
511.17	1-	64843	0.30
525.15	1-	79268	0.29



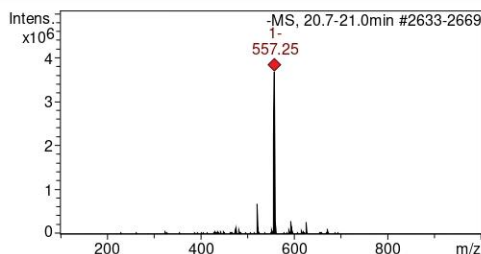
m/z	z	I	FWHM
152.93	1-	5284	0.23
171.71	1-	19755	0.22
282.84	1-	6691	0.26
284.99		3929	0.15
285.88	1-	7072	0.38
312.17	1-	5842	0.40
326.89		10866	0.24
405.15	1-	164238	0.27
406.16	1-	23583	0.27
407.11	1-	6212	0.28



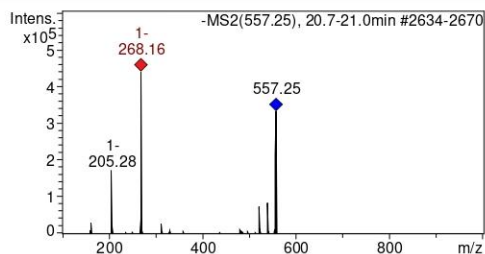
m/z	z	I	FWHM
102.71		1393	0.22
109.01		1950	0.13
134.04		3770	0.17
152.85		3893	0.15
159.25		1753	0.13
171.78		11530	0.17
238.94	1-	2551	0.25
268.25		1234	0.13
339.13		1412	0.13
387.00		1283	0.13

Compound Spectrum List Report

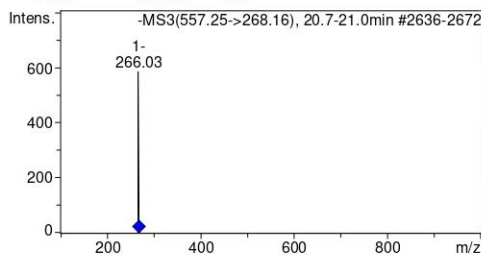
Cmpd 5, AutoMSn(557.25), 20.8 min



m/z	z	I	FWHM
475.16		128352	0.25
521.24	1-	682049	0.29
522.23	1-	180215	0.28
557.25	1-	3672562	0.31
558.23	1-	1002845	0.33
559.24	1-	267258	0.28
593.21	1-	298006	0.27
595.20		120422	0.31
625.23	1-	265017	0.29
671.23		103271	0.30



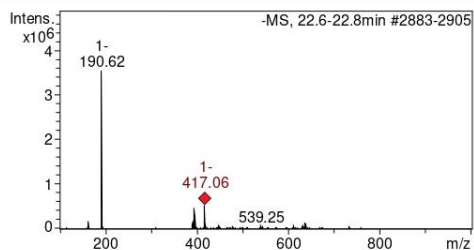
m/z	z	I	FWHM
161.31	1-	29700	0.31
205.28	1-	170480	0.30
206.33	1-	18523	0.27
268.15	1-	439666	0.29
269.18	1-	49362	0.29
312.17	1-	25525	0.27
521.23	1-	73601	0.28
539.24	1-	84749	0.30
540.26	1-	30322	0.27
557.25		331539	0.33



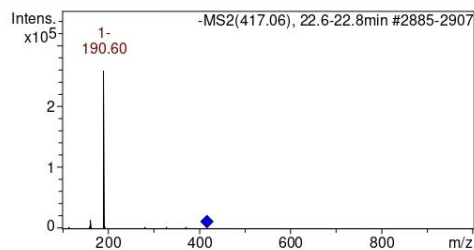
m/z	z	I	FWHM
266.03	1-	586	0.39
266.96	1-	415	0.23

Compound Spectrum List Report

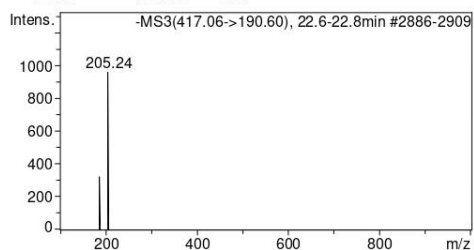
Cmpd 6, AutoMSn(417.06), 22.7 min



m/z	z	I	FWHM
161.28		175842	0.26
190.62	1-	3541877	0.30
191.67	1-	361558	0.27
391.00		149634	0.28
395.00	1-	468102	0.33
395.99	1-	96837	0.27
417.06	1-	537075	0.32
418.06	1-	111962	0.32
539.25		78160	0.25
637.15		135418	0.34



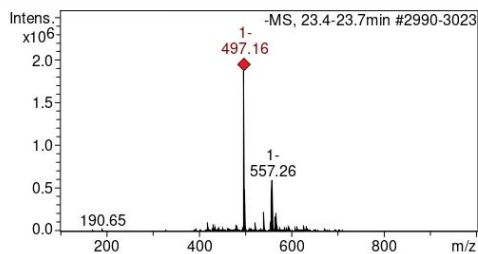
m/z	z	I	FWHM
114.26		1184	0.15
115.32		1874	0.28
160.21		1520	0.19
161.27	1-	14855	0.28
190.60	1-	258449	0.31
191.63	1-	26909	0.24
192.70	1-	3432	0.24
280.72		1259	0.18
328.88		1154	0.13
371.03		1961	0.37



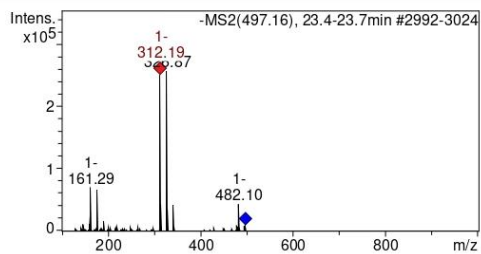
m/z	z	I	FWHM
186.38	325		0.13
205.24	960		0.14

Compound Spectrum List Report

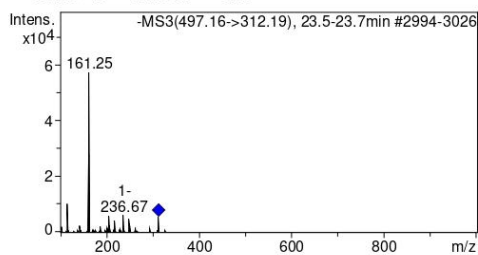
Cmpd 7, AutoMSn(497.16), 23.6 min



m/z	z	I	FWHM
419.18	1-	100101	0.30
497.17	1-	1866144	0.32
498.13	1-	490795	0.32
499.17	1-	136119	0.35
539.26	1-	225022	0.32
555.23	1-	120226	0.32
557.26	1-	599311	0.33
558.26	1-	202966	0.28
565.13	1-	164277	0.32
567.22	1-	212252	0.29



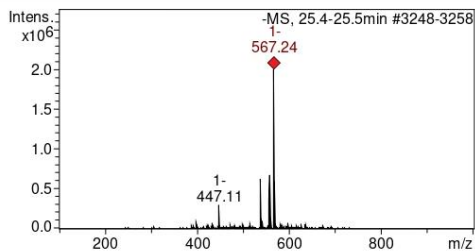
m/z	z	I	FWHM
160.21		11281	0.29
161.29	1-	69580	0.27
175.96	1-	65200	0.29
190.68	1-	15357	0.31
312.19	1-	249740	0.32
313.20	1-	43373	0.30
326.87	1-	256731	0.31
327.89	1-	34715	0.31
341.03	1-	41972	0.30
482.10	1-	42945	0.26



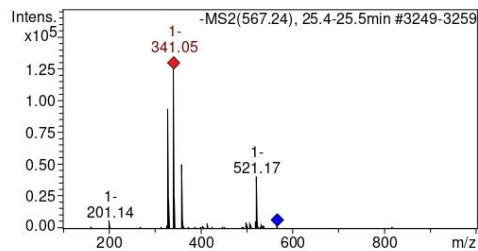
m/z	z	I	FWHM
114.23		2383	0.14
115.29	1-	10177	0.19
142.43		2616	0.24
161.25		57267	0.24
205.28	1-	5804	0.19
217.86		4133	0.20
236.67	1-	6017	0.21
249.23	1-	4938	0.28
311.19	1-	3050	0.25
312.18	1-	5602	0.25

Compound Spectrum List Report

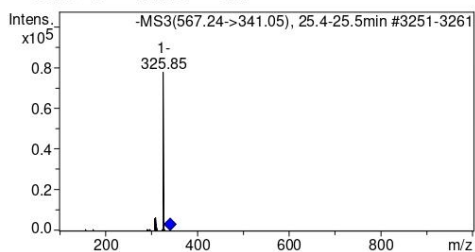
Cmpd 8, AutoMSn(567.24), 25.5 min



m/z	z	I	FWHM
447.11	1-	302678	0.30
537.25	1-	634060	0.29
538.25	1-	150078	0.32
539.25	1-	119773	0.23
557.26	1-	673977	0.31
558.25	1-	182633	0.32
559.22	1-	136733	0.30
567.25	1-	1996365	0.34
568.20	1-	587531	0.31
569.22	1-	177419	0.27



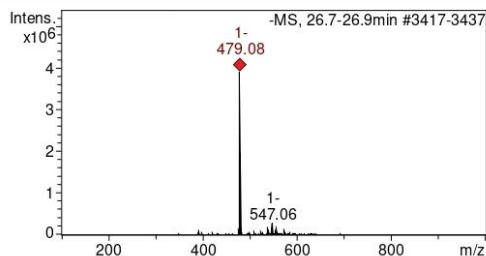
m/z	z	I	FWHM
201.14	1-	5787	0.17
328.99	1-	93151	0.33
330.00	1-	22529	0.25
341.05	1-	124082	0.28
342.03	1-	23676	0.29
359.09	1-	49782	0.27
360.07	1-	11254	0.28
519.28	1-	5225	0.15
521.17	1-	40539	0.41
522.16	1-	10518	0.40



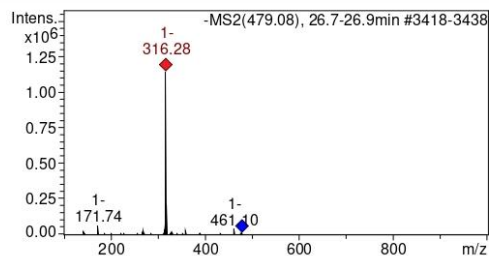
m/z	z	I	FWHM
292.19		668	0.24
293.50		660	0.13
294.38		747	0.13
308.03	1-	6014	0.21
309.09	1-	3175	0.19
310.12	1-	6334	0.34
311.18	1-	1738	0.37
325.85	1-	77614	0.31
326.92	1-	16822	0.36
327.93	1-	995	0.24

Compound Spectrum List Report

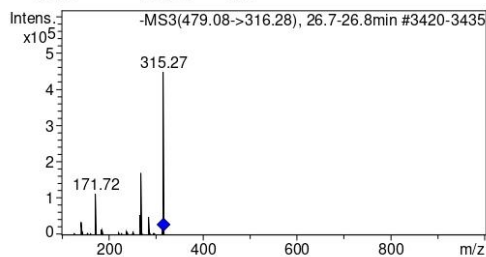
Cmpd 9, AutoMSn(479.08), 26.8 min



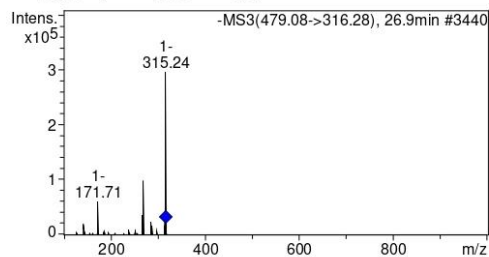
m/z	z	I	FWHM
477.10		121527	0.28
479.09	1-	3911157	0.31
480.06	1-	959960	0.31
481.08	1-	205000	0.31
523.23		69355	0.32
537.17		187018	0.35
539.21		120426	0.32
547.06	1-	275228	0.30
555.25		133958	0.31
573.26		150100	0.28



m/z	z	I	FWHM
142.46	1-	18609	0.31
171.74	1-	63899	0.26
268.19	1-	25928	0.32
314.40		34441	0.31
315.35		1140948	0.36
316.27	1-	1142465	0.37
317.32	1-	209179	0.32
318.43	1-	28455	0.28
359.02	1-	31706	0.25
461.10	1-	41063	0.31



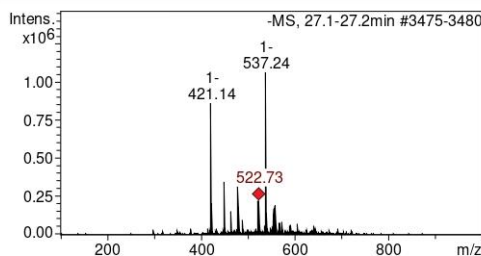
m/z	z	I	FWHM
142.42	1-	35073	0.25
171.72		111930	0.27
185.34	1-	14424	0.24
267.10		52796	0.30
268.14	1-	168412	0.31
269.20	1-	37136	0.27
284.89	1-	48184	0.26
285.93	1-	32979	0.28
314.26		40077	0.34
315.27		447523	0.31



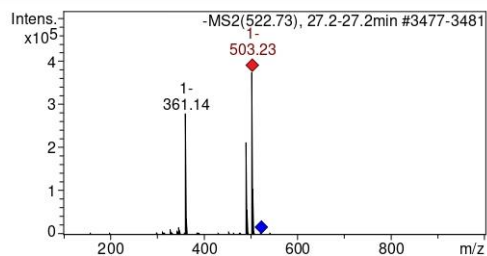
m/z	z	I	FWHM
142.43	1-	19322	0.31
171.71	1-	60040	0.26
267.07		34509	0.27
268.11	1-	97816	0.27
284.89	1-	23569	0.22
285.92	1-	14696	0.28
287.00	1-	15724	0.13
314.21		16491	0.30
315.24	1-	295984	0.23
316.27	1-	19701	0.17

Compound Spectrum List Report

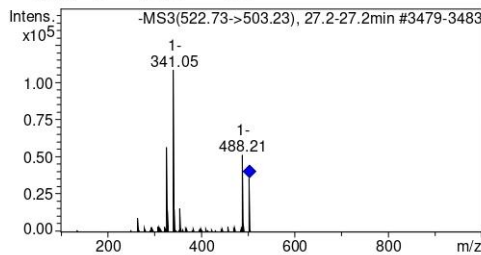
Cmpd 10, AutoMSn(522.73), 27.2 min



m/z	z	I	FWHM
421.14	1-	860032	0.32
422.12	1-	200423	0.31
449.10	1-	343213	0.30
479.13	1-	318002	0.28
521.26	1-	222917	0.28
523.29	1-	222151	0.31
537.24	1-	1061389	0.32
538.23	1-	314813	0.31
555.26	1-	173365	0.27
557.25	1-	190527	0.33



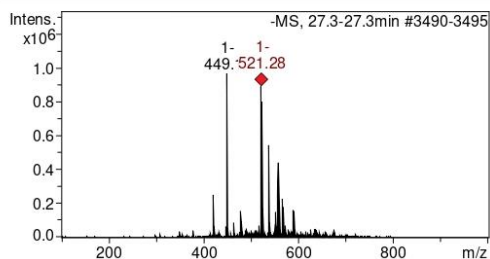
m/z	z	I	FWHM
328.98	1-	12132	0.31
347.07	1-	16608	0.30
361.14	1-	277484	0.33
362.13	1-	70434	0.24
491.22	1-	212618	0.30
492.18	1-	56511	0.29
493.19	1-	17622	0.33
503.24	1-	373697	0.34
504.19	1-	103473	0.34
505.21	1-	23096	0.35



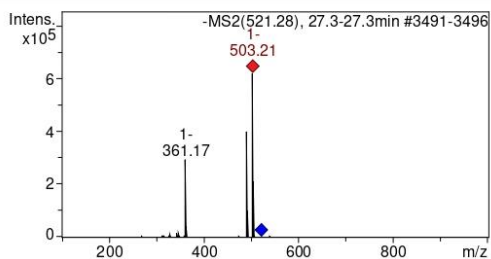
m/z	z	I	FWHM
265.04	1-	8918	0.18
325.85	1-	33212	0.31
326.91	1-	56172	0.31
327.91	1-	14321	0.38
341.05	1-	107956	0.28
342.07	1-	15140	0.32
355.03	1-	15570	0.14
488.21	1-	51394	0.30
489.27	1-	15530	0.27
503.18	1-	35843	0.27

Compound Spectrum List Report

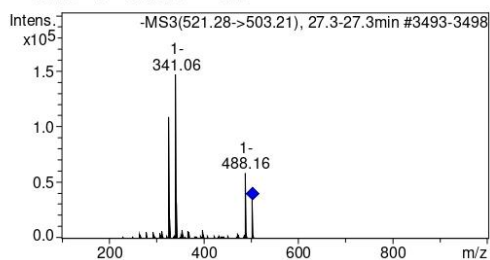
Cmpd 11, AutoMSn(521.28), 27.3 min



m/z	z	I	FWHM
421.15	1-	253680	0.31
449.10	1-	967911	0.30
450.08	1-	223197	0.29
521.28	1-	890814	0.29
522.26	1-	281476	0.28
523.28	1-	799358	0.29
524.27	1-	232449	0.32
537.26	1-	544831	0.33
557.25	1-	442119	0.30
567.23	1-	231618	0.28



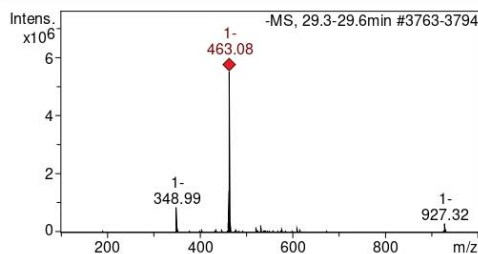
m/z	z	I	FWHM
343.17	1-	13899	0.26
347.16	1-	16958	0.27
361.17	1-	292937	0.34
362.16	1-	70664	0.24
491.25	1-	399807	0.31
492.20	1-	97864	0.29
493.26	1-	24093	0.36
503.24	1-	619644	0.39
504.16	1-	208506	0.31
505.18	1-	44745	0.30



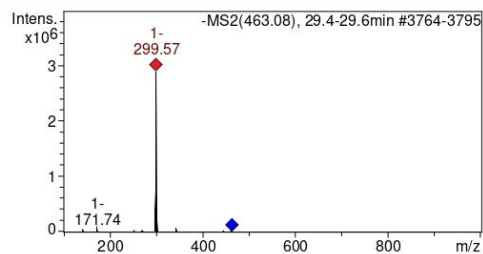
m/z	z	I	FWHM
325.85		50961	0.25
326.86	1-	108273	0.26
327.93	1-	17341	0.30
341.06	1-	146965	0.30
342.08	1-	31079	0.26
355.05	1-	7064	0.27
399.13	1-	7334	0.16
488.16	1-	58311	0.34
489.22	1-	13549	0.29
503.20		33981	0.34

Compound Spectrum List Report

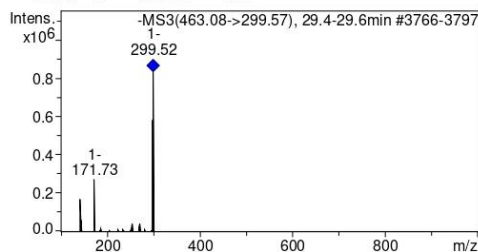
Cmpd 12, AutoMSn(463.08), 29.5 min



m/z	z	I	FWHM
348.99	1-	865128	0.30
349.97	1-	142822	0.35
461.10	1-	319942	0.31
463.09	1-	5513413	0.32
464.06	1-	1240818	0.31
465.09	1-	330635	0.28
521.20		167168	0.37
531.09		250112	0.29
927.32	1-	312342	0.32
928.34	1-	145308	0.22



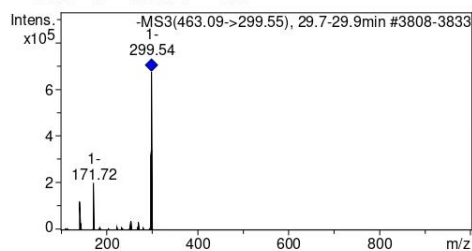
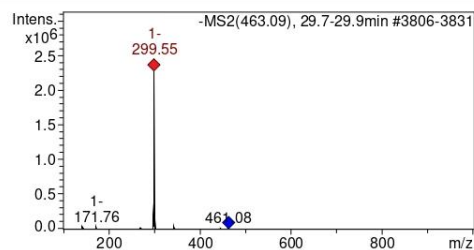
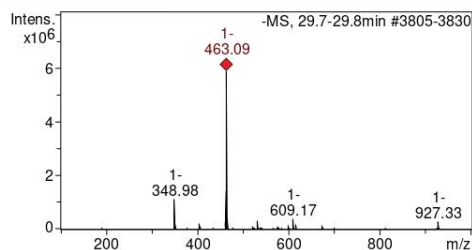
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	44202	0.29
171.74	1-	69346	0.29
268.19		26409	0.26
297.64		67743	0.37
298.66		739057	0.33
299.57	1-	2886376	0.38
300.56	1-	516002	0.34
301.68	1-	66752	0.35
342.95	1-	76180	0.28
461.05	1-	35345	0.27



m/z	z	I	FWHM
142.46	1-	168972	0.29
171.73	1-	274342	0.28
172.80	1-	18223	0.27
251.45	1-	15888	0.25
253.51	1-	40720	0.24
269.23	1-	18533	0.31
270.27	1-	40527	0.28
297.58		146884	0.29
298.57	1-	581755	0.35
299.52	1-	830371	0.35

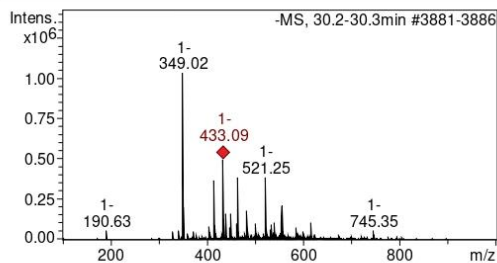
Compound Spectrum List Report

Cmpd 13, AutoMSn(463.09), 29.8 min

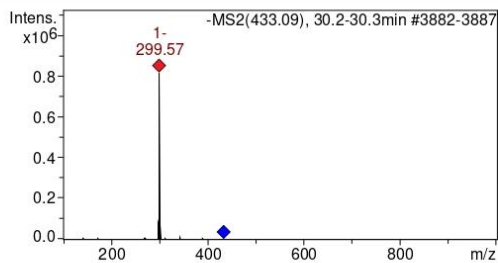


Compound Spectrum List Report

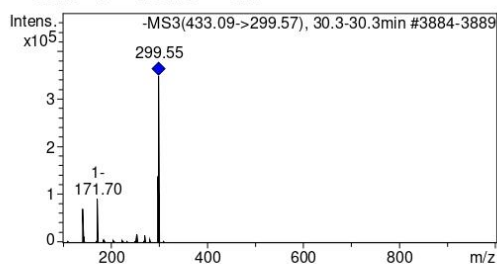
Cmpd 14, AutoMSn(433.09), 30.3 min



m/z	z	I	FWHM
349.02	1-	1030947	0.30
350.02	1-	199741	0.26
415.21	1-	365105	0.30
433.09	1-	497769	0.30
439.08	1-	161026	0.31
449.11	1-	162287	0.29
463.12	1-	383983	0.28
483.21	1-	177089	0.28
521.25	1-	388448	0.31
555.26	1-	209478	0.29



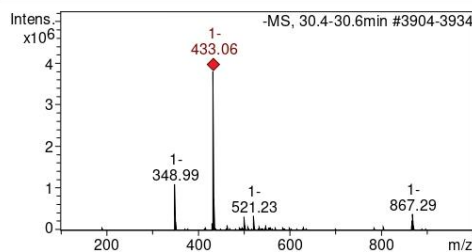
m/z	z	I	FWHM
142.44		6301	0.26
171.70		6732	0.31
268.16		6554	0.22
270.27		5746	0.14
297.50		6228	0.36
298.61		102998	0.36
299.57	1-	814071	0.37
300.56	1-	145297	0.35
301.63	1-	27620	0.24
342.94	1-	10409	0.29



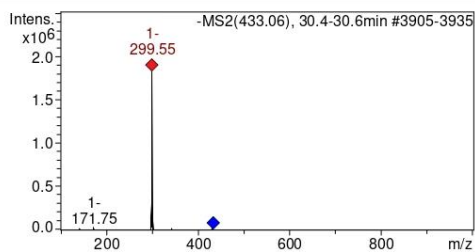
m/z	z	I	FWHM
142.43	1-	70678	0.26
143.42	1-	9173	0.25
171.70	1-	90855	0.28
172.71	1-	19864	0.23
224.17	1-	5270	0.20
253.51	1-	16001	0.18
270.29	1-	14411	0.27
280.65	1-	6878	0.18
298.54		138699	0.29
299.55		347789	0.31

Compound Spectrum List Report

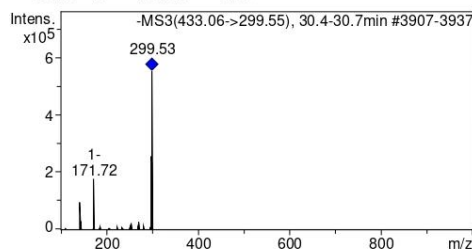
Cmpd 15, AutoMSn(433.06), 30.5 min



m/z	z	I	FWHM
348.99	1-	1093191	0.31
349.99	1-	216205	0.28
431.08		163538	0.29
433.07	1-	3797185	0.33
434.05	1-	895920	0.31
435.07	1-	208244	0.31
501.07	1-	316689	0.31
521.23	1-	343581	0.28
867.29	1-	383917	0.36
868.28	1-	168451	0.32



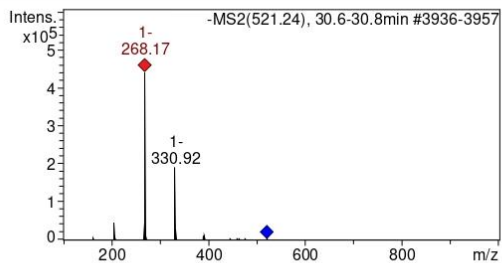
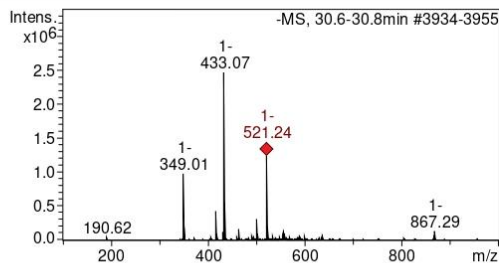
m/z	z	I	FWHM
142.44		14869	0.32
171.75	1-	29305	0.25
297.64		20053	0.24
298.67		300985	0.32
299.56	1-	1821071	0.42
300.52	1-	340166	0.34
301.68	1-	57130	0.31
342.96		17184	0.33
415.04		6263	0.20
431.06		17065	0.29



m/z	z	I	FWHM
142.43	1-	96112	0.31
171.72	1-	176723	0.30
172.78	1-	16062	0.23
251.41	1-	10368	0.24
253.51	1-	19423	0.35
270.25	1-	28302	0.25
280.71	1-	14401	0.26
297.54		25335	0.29
298.55		255232	0.33
299.53		552898	0.34

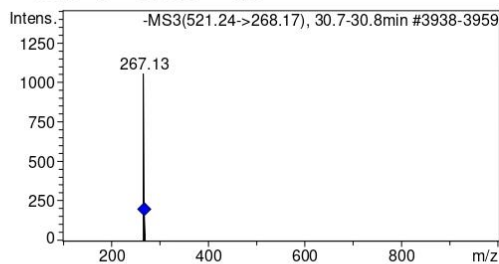
Compound Spectrum List Report

Cmpd 16, AutoMSn(521.24), 30.7 min



m/z	z	I	FWHM
349.01	1-	981993	0.30
350.01	1-	187636	0.27
417.21	1-	422307	0.28
433.07	1-	2464849	0.33
434.06	1-	546970	0.32
435.07	1-	134934	0.32
463.11	1-	164829	0.30
501.09	1-	315535	0.29
521.24	1-	1237711	0.31
522.23	1-	325616	0.33

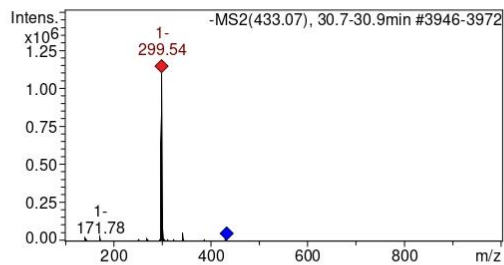
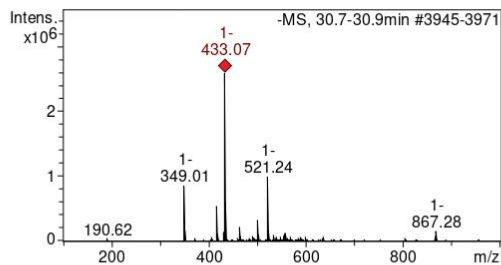
m/z	z	I	FWHM
161.31	1-	4610	0.36
205.27	1-	45148	0.25
206.31	1-	5718	0.25
268.17	1-	440056	0.32
269.18	1-	52693	0.29
270.28	1-	9763	0.25
330.92	1-	189889	0.29
331.91	1-	27170	0.29
390.95	1-	9994	0.27
477.13	1-	4461	0.17



m/z	z	I	FWHM
267.13	1-	1056	0.13

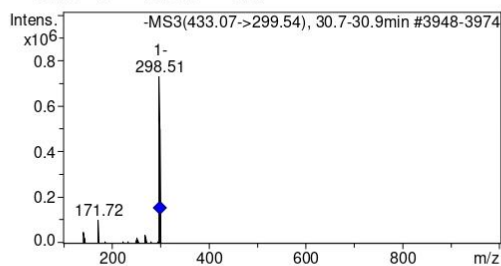
Compound Spectrum List Report

Cmpd 17, AutoMSn(433.07), 30.8 min



m/z	z	I	FWHM
349.01	1-	859706	0.28
350.01	1-	158938	0.26
417.21	1-	533183	0.29
433.07	1-	2589956	0.33
434.06	1-	610358	0.32
463.10	1-	210749	0.30
501.08	1-	327970	0.29
521.24	1-	994757	0.32
522.23	1-	266324	0.33
867.28	1-	151325	0.31

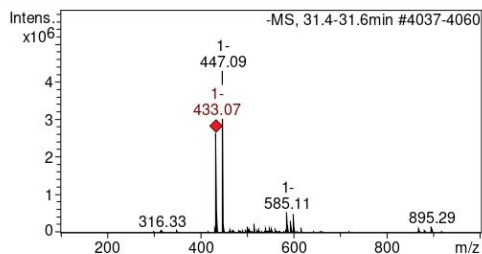
m/z	z	I	FWHM
142.45	1-	19187	0.32
171.78	1-	26521	0.29
268.12	1-	11522	0.22
297.66		27023	0.24
298.62		832824	0.38
299.53	1-	1096705	0.38
300.57	1-	182165	0.35
301.71	1-	32596	0.25
342.96	1-	51986	0.27
431.02	1-	22340	0.21



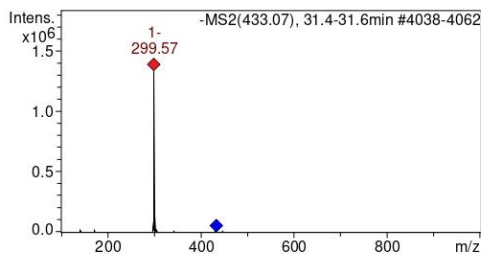
m/z	z	I	FWHM
142.44		49199	0.33
171.72		102597	0.26
251.39	1-	20107	0.29
252.44	1-	14344	0.30
268.13	1-	34530	0.21
269.18	1-	33547	0.27
270.26	1-	18862	0.28
297.52		25562	0.30
298.51	1-	730321	0.34
299.52	1-	124463	0.34

Compound Spectrum List Report

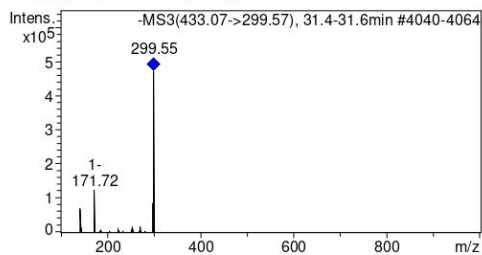
Cmpd 18, AutoMSn(433.07), 31.5 min



m/z	z	I	FWHM
433.07	1-	2640708	0.31
434.06	1-	552456	0.31
447.09	1-	4282944	0.31
448.06	1-	1009175	0.31
449.06	1-	201001	0.34
515.12	1-	221595	0.33
585.11	1-	542242	0.29
586.13	1-	177828	0.27
593.18	1-	321128	0.32
599.14	1-	483802	0.28



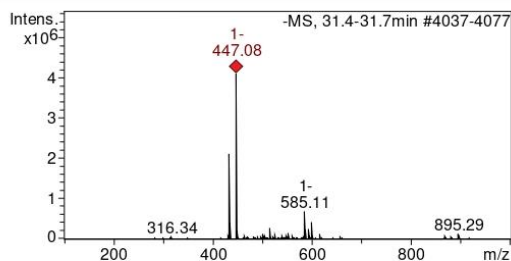
m/z	z	I	FWHM
142.37	1-	16382	0.17
171.75	1-	14110	0.23
298.65	1-	97794	0.23
299.58	1-	1326432	0.37
300.57	1-	227915	0.39
301.63	1-	32887	0.29
305.76		14384	0.15
342.98		12071	0.24
430.98		10357	0.16
448.11		11085	0.18



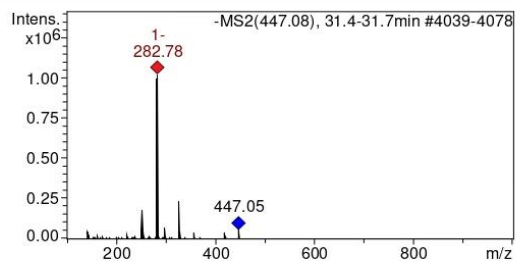
m/z	z	I	FWHM
142.42	1-	69241	0.27
171.72	1-	123838	0.27
172.81	1-	16101	0.26
186.43	1-	6239	0.27
224.16	1-	7978	0.23
253.49	1-	10563	0.36
270.27	1-	18171	0.18
297.60		7736	0.20
298.57		84821	0.31
299.55		471284	0.34

Compound Spectrum List Report

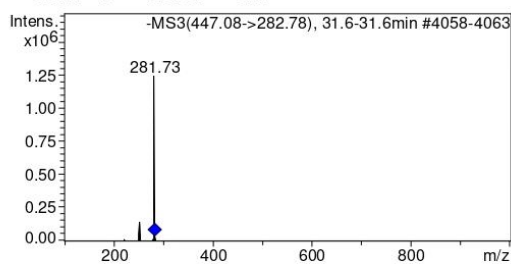
Cmpd 19, AutoMSn(447.08), 31.6 min



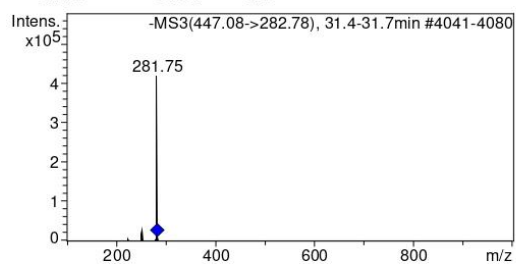
m/z	z	I	FWHM
433.08	1-	2101900	0.31
434.06	1-	433007	0.31
447.09	1-	4105113	0.31
448.06	1-	945685	0.31
449.07	1-	196329	0.33
515.11	1-	260793	0.32
585.11	1-	679332	0.30
586.12	1-	218344	0.29
593.18	1-	252316	0.32
599.14	1-	429132	0.29



m/z	z	I	FWHM
142.50	1-	45873	0.25
251.42	1-	178885	0.28
252.47	1-	44594	0.29
281.82	1-	991639	0.34
282.78	1-	1019770	0.34
283.81	1-	161048	0.31
297.48	1-	66569	0.25
326.83	1-	230884	0.29
327.88	1-	43217	0.30
447.05		54081	0.23



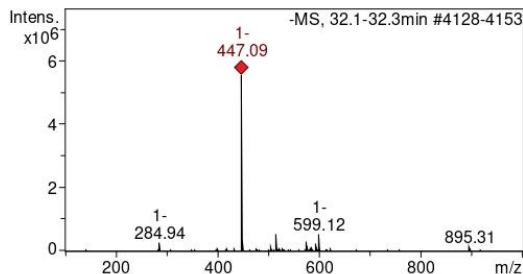
m/z	z	I	FWHM
192.63		1998	0.13
222.01		10567	0.26
251.41	1-	142800	0.27
252.46	1-	40636	0.26
278.72		7177	0.27
279.95		2227	0.37
280.85		46614	0.26
281.73		1240881	0.37
282.70		31870	0.31
293.25		1638	0.13



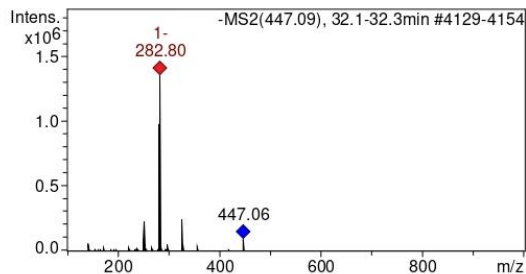
m/z	z	I	FWHM
221.98		1238	0.40
223.13		5640	0.13
237.75		1346	0.13
251.37	1-	27309	0.32
252.42	1-	11403	0.31
253.53	1-	1137	0.16
278.66		2263	0.39
280.79		24807	0.20
281.75		419342	0.31
282.82		9638	0.32

Compound Spectrum List Report

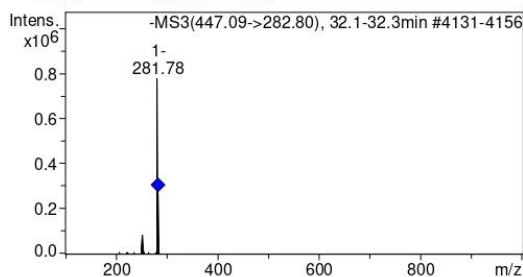
Cmpd 20, AutoMSn(447.09), 32.2 min



m/z	z	I	FWHM
284.94	1-	277624	0.32
447.09	1-	5545976	0.32
448.07	1-	1301017	0.31
449.10	1-	321809	0.25
515.10	1-	539516	0.28
575.12	1-	288661	0.31
593.18		247016	0.30
599.12	1-	541907	0.27
600.12	1-	176252	0.28
895.31		141526	0.31



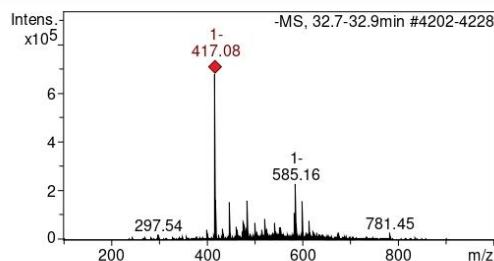
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	56027	0.27
251.42	1-	222301	0.28
252.47	1-	72423	0.27
281.83		973978	0.33
282.80	1-	1350535	0.34
283.83	1-	241108	0.31
297.50	1-	50258	0.24
326.82	1-	238848	0.31
327.85	1-	52725	0.27
447.06		92135	0.33



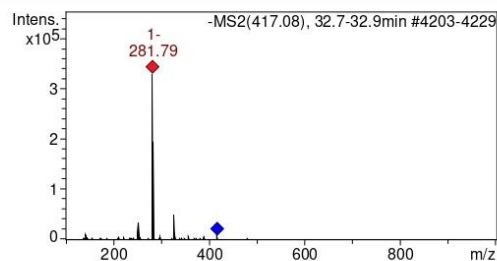
m/z	z	I	FWHM
222.07		5562	0.23
236.75		4958	0.24
251.40	1-	85107	0.26
252.44	1-	37032	0.31
253.49	1-	14928	0.36
263.97		5162	0.28
278.68		7384	0.26
280.85		29176	0.24
281.78	1-	778653	0.34
282.77	1-	272669	0.36

Compound Spectrum List Report

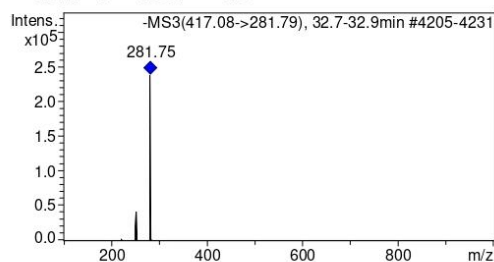
Cmpd 21, AutoMSn(417.08), 32.8 min



m/z	z	I	FWHM
417.08	1-	679013	0.32
418.07	1-	163203	0.30
447.14	1-	151489	0.32
477.16	1-	72145	0.32
485.10	1-	159443	0.29
521.26	1-	85326	0.33
583.18	1-	109155	0.30
585.16	1-	229470	0.32
599.15	1-	155871	0.33
613.17	1-	78391	0.30



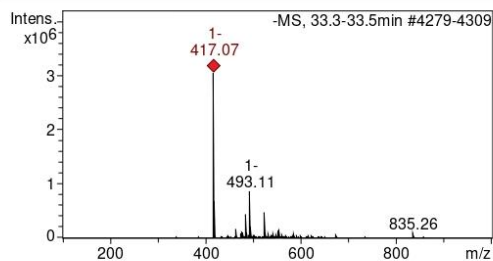
m/z	z	I	FWHM
142.45	1-	9901	0.29
251.41	1-	33542	0.29
252.43	1-	10197	0.27
253.43	1-	9629	0.22
280.79		9523	0.28
281.79	1-	329081	0.34
282.79	1-	194440	0.31
283.84	1-	33023	0.26
326.84	1-	48075	0.24
327.87	1-	7438	0.22



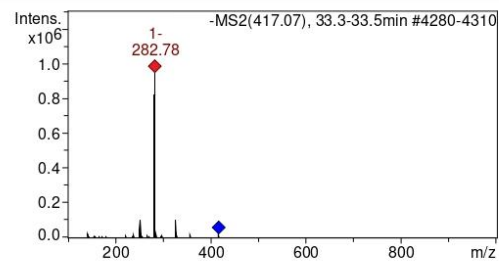
m/z	z	I	FWHM
221.95		1629	0.26
234.60		672	0.15
251.38	1-	40693	0.24
252.47	1-	11540	0.34
278.62		809	0.13
279.00		240	0.13
280.77		8481	0.26
281.75		237919	0.30
282.50		1592	0.13

Compound Spectrum List Report

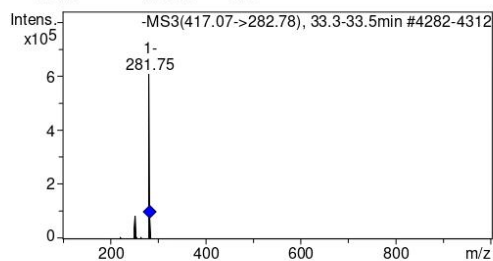
Cmpd 22, AutoMSn(417.07), 33.4 min



m/z	z	I	FWHM
417.07	1-	3047964	0.32
418.06	1-	678073	0.31
419.08	1-	164786	0.31
463.09	1-	168025	0.32
485.08	1-	444901	0.30
493.11	1-	868738	0.31
494.10	1-	199591	0.31
523.25	1-	474611	0.33
524.25	1-	164258	0.30
553.10		145025	0.33



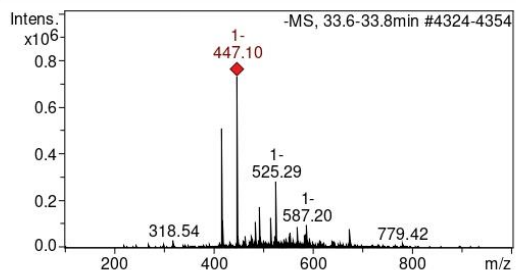
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	25581	0.29
251.42	1-	102512	0.32
252.45	1-	41232	0.28
281.82		820953	0.35
282.78	1-	941534	0.34
283.82	1-	141980	0.33
284.91	1-	25873	0.23
326.81	1-	101906	0.32
327.84	1-	19808	0.26
417.07		18916	0.30



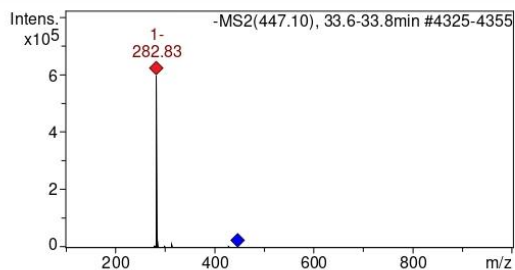
m/z	z	I	FWHM
192.64		1583	0.14
222.07		5061	0.26
251.40	1-	84254	0.28
252.45	1-	32701	0.28
253.51	1-	7798	0.18
264.02		3518	0.20
278.67		1641	0.32
280.80		10869	0.33
281.75	1-	608375	0.35
282.78	1-	74196	0.34

Compound Spectrum List Report

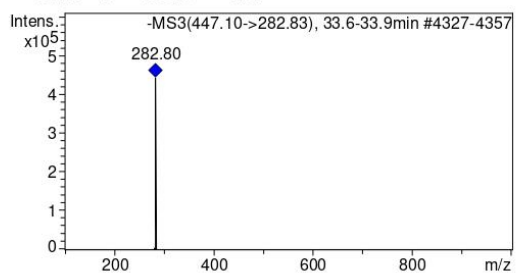
Cmpd 23, AutoMSn(447.10), 33.7 min



m/z	z	I	FWHM
417.08	1-	508216	0.32
418.07	1-	114629	0.31
447.10	1-	729756	0.33
448.08	1-	174884	0.31
485.10	1-	107541	0.30
493.14	1-	175977	0.32
515.10	1-	128293	0.27
525.29	1-	282163	0.30
569.14	1-	85999	0.33
587.20	1-	96310	0.32



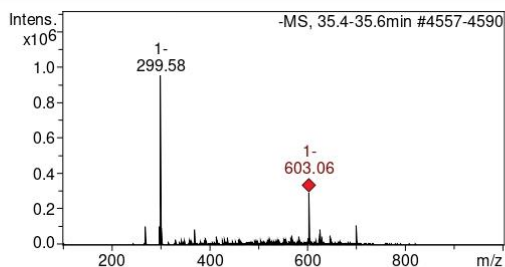
m/z	z	I	FWHM
278.62		6029	0.17
281.84		4999	0.17
282.82	1-	596374	0.37
283.82	1-	94038	0.35
284.89	1-	28889	0.28
299.51		2801	0.14
313.22	1-	10170	0.25
314.30	1-	3706	0.34
415.13		2632	0.13
428.13		3334	0.13



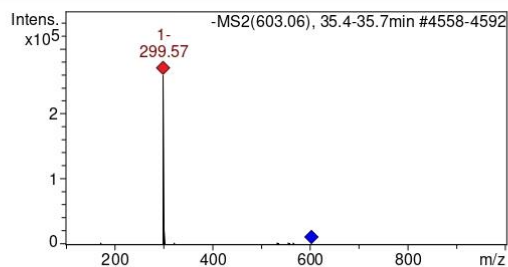
m/z	z	I	FWHM
192.75		292	0.13
207.38		649	0.13
281.73		3825	0.17
282.80		442778	0.35

Compound Spectrum List Report

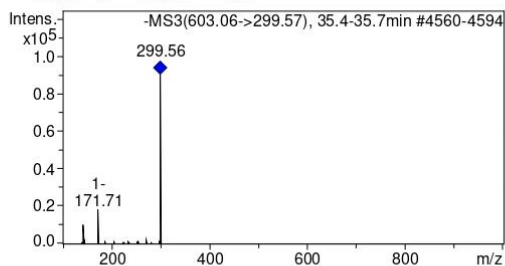
Cmpd 24, AutoMSn(603.06), 35.5 min



m/z	z	I	FWHM
268.19	1-	102798	0.30
297.51	1-	102708	0.34
299.58	1-	952181	0.30
300.62	1-	171905	0.29
368.97	1-	85452	0.29
569.21	1-	52978	0.35
603.06	1-	295586	0.35
604.05	1-	107074	0.32
625.10	1-	86297	0.31
699.22	1-	105785	0.30



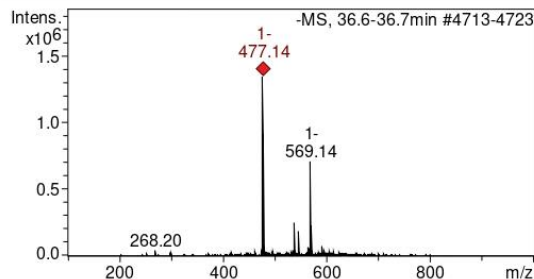
m/z	z	I	FWHM
171.82		1971	0.22
299.57	1-	259275	0.34
300.62	1-	39785	0.30
322.62		2251	0.42
323.69		1098	0.25
451.04		1036	0.15
533.88		1501	0.13
535.28		1468	0.16
557.27		1279	0.37
567.25		1366	0.34



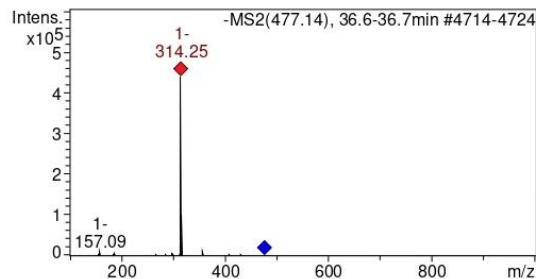
m/z	z	I	FWHM
142.42	1-	10351	0.34
143.41	1-	1947	0.16
171.71	1-	18004	0.28
172.80	1-	2212	0.28
186.41		1158	0.18
234.55	1-	1176	0.16
253.43	1-	1421	0.24
270.26	1-	2068	0.26
297.52		1193	0.15
299.56		89962	0.34

Compound Spectrum List Report

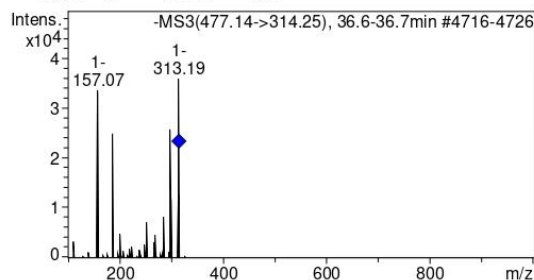
Cmpd 25, AutoMSn(477.14), 36.6 min



m/z	z	I	FWHM
477.14	1-	1347316	0.31
478.13	1-	333774	0.29
479.14	1-	69550	0.36
537.21	1-	251558	0.31
538.21	1-	74230	0.26
545.12	1-	183896	0.27
569.14	1-	706007	0.31
570.12	1-	224371	0.27
571.13	1-	65626	0.28
591.09	1-	70862	0.28



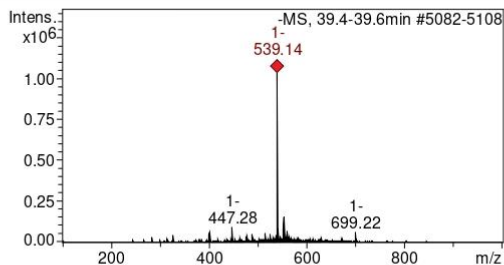
m/z	z	I	FWHM
157.09	1-	10418	0.26
184.38		3561	0.13
186.35	1-	5553	0.19
297.49	1-	6963	0.18
313.27		100176	0.27
314.25	1-	439346	0.35
315.27	1-	98934	0.29
316.36	1-	23951	0.17
357.03	1-	10106	0.29
358.04	1-	3316	0.38



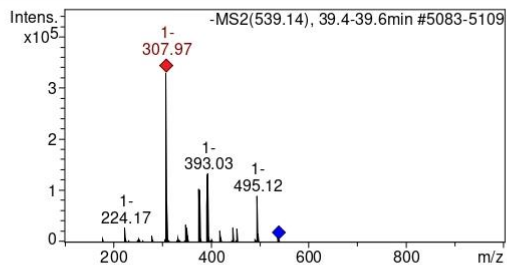
m/z	z	I	FWHM
157.07	1-	33588	0.30
186.36	1-	24813	0.25
201.04	1-	4744	0.15
252.45		7093	0.22
268.20	1-	4403	0.23
284.94		8074	0.32
297.41		12039	0.40
298.47	1-	25559	0.29
313.19	1-	35860	0.31
314.24	1-	21761	0.30

Compound Spectrum List Report

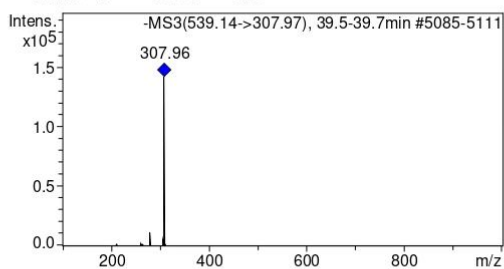
Cmpd 26, AutoMSn(539.14), 39.5 min



m/z	z	I	FWHM
401.23	1-	65410	0.33
447.28	1-	95772	0.30
515.29	1-	54063	0.32
539.15	1-	1028656	0.31
540.11	1-	350056	0.32
541.15	1-	81721	0.32
553.15	1-	152362	0.32
554.13	1-	52233	0.31
561.11	1-	68647	0.29
699.22	1-	59534	0.33



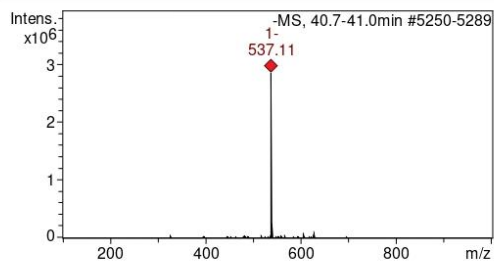
m/z	z	I	FWHM
224.17	1-	27932	0.27
307.97	1-	328562	0.35
308.97	1-	72125	0.29
349.02	1-	34073	0.25
350.99	1-	27619	0.30
375.03	1-	103748	0.28
376.03	1-	36651	0.21
377.02	1-	101994	0.29
393.03	1-	133319	0.33
495.12	1-	90171	0.22



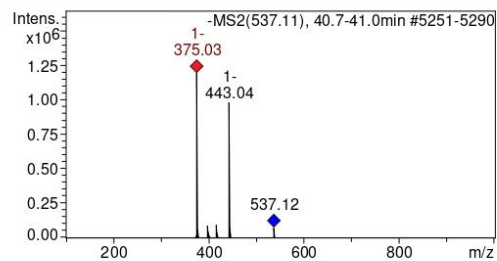
m/z	z	I	FWHM
210.44		904	0.25
260.83	1-	1821	0.18
261.94	1-	816	0.27
263.88		886	0.13
278.60	1-	11232	0.29
279.68	1-	3323	0.38
305.91	1-	5306	0.40
306.89	1-	1694	0.13
307.96		141447	0.32
308.90		1770	0.23

Compound Spectrum List Report

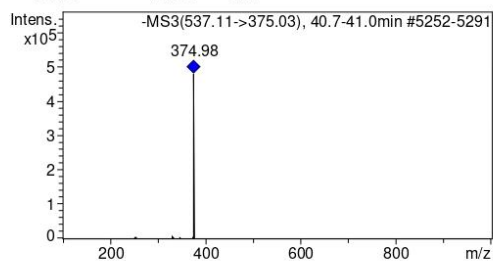
Cmpd 27, AutoMSn(537.11), 40.9 min



m/z	z	I	FWHM
327.01		37888	0.31
483.28		43503	0.27
537.12	1-	2848047	0.33
538.09	1-	985048	0.30
539.11	1-	234896	0.29
540.12	1-	47315	0.25
559.10		32917	0.32
567.13		31276	0.36
605.09		84629	0.31
627.06		78408	0.29



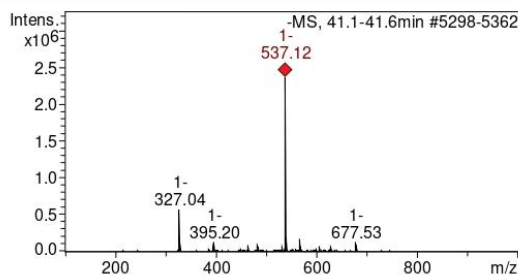
m/z	z	I	FWHM
375.05	1-	1190862	0.38
375.96	1-	313649	0.34
377.03	1-	59876	0.28
399.05	1-	83903	0.30
400.03	1-	28942	0.26
417.07	1-	90461	0.31
443.04	1-	979126	0.37
443.97	1-	292948	0.31
445.01	1-	61922	0.29
537.12		74430	0.32



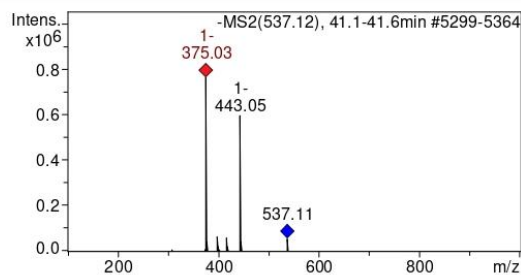
m/z	z	I	FWHM
251.40		2246	0.18
253.43		3151	0.26
330.91	1-	7135	0.25
331.94	1-	1374	0.32
332.89		2555	0.17
347.03		2927	0.23
348.01		1850	0.17
374.26		1050	0.13
374.98		479853	0.31
375.94	1-	11336	0.29

Compound Spectrum List Report

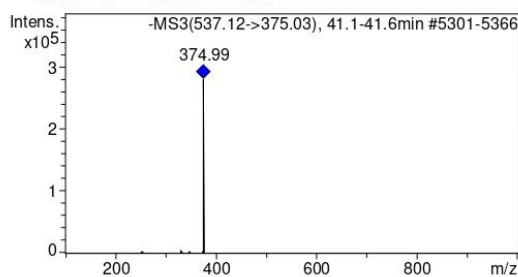
Cmpd 28, AutoMSn(537.12), 41.3 min



m/z	z	I	FWHM
327.04	1-	576723	0.31
328.06	1-	113338	0.31
395.20	1-	126532	0.31
463.20	1-	82491	0.32
483.28	1-	81958	0.26
537.13	1-	2365250	0.32
538.10	1-	797499	0.29
539.12	1-	191142	0.29
567.12	1-	176515	0.30
677.53	1-	129298	0.35



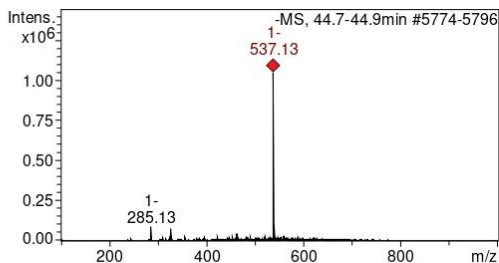
m/z	z	I	FWHM
375.05	1-	761945	0.36
375.97	1-	202352	0.29
377.03	1-	40319	0.24
399.03	1-	62408	0.28
401.03	1-	16557	0.27
417.05	1-	57609	0.31
443.05	1-	597258	0.36
443.98	1-	194040	0.29
445.03	1-	40557	0.27
537.11	1-	56275	0.25



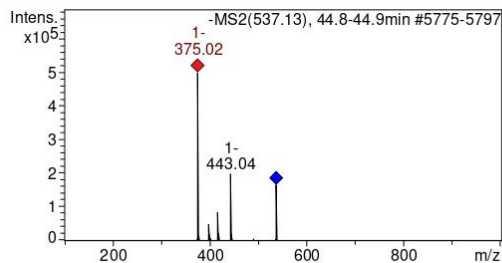
m/z	z	I	FWHM
251.34	1-	1347	0.18
253.44	1-	1707	0.34
330.96	1-	3074	0.34
332.06	1-	1385	0.35
332.88	1-	908	0.13
346.94	1-	1820	0.32
347.99	1-	1459	0.17
374.13	1-	969	0.13
374.99	1-	280411	0.30
375.97	1-	9281	0.25

Compound Spectrum List Report

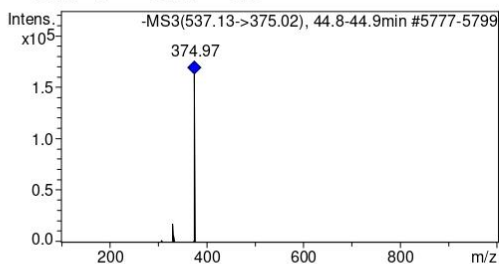
Cmpd 29, AutoMSn(537.13), 44.8 min



m/z	z	I	FWHM
285.13	1-	90555	0.29
327.03	1-	78773	0.31
355.19		29129	0.33
461.25		45539	0.32
463.22		41942	0.35
491.21		29061	0.33
520.94		28167	0.24
537.14	1-	1048106	0.32
538.10	1-	347004	0.32
539.14	1-	96142	0.33



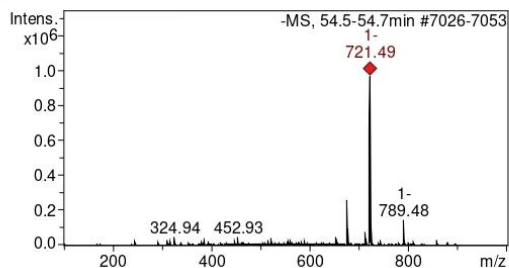
m/z	z	I	FWHM
375.02	1-	498385	0.35
375.98	1-	137823	0.32
377.06	1-	16672	0.35
399.03	1-	47116	0.26
400.05	1-	16784	0.27
417.06	1-	83799	0.29
418.05	1-	22424	0.32
443.04	1-	197832	0.30
444.04	1-	68981	0.25
537.11		164511	0.28



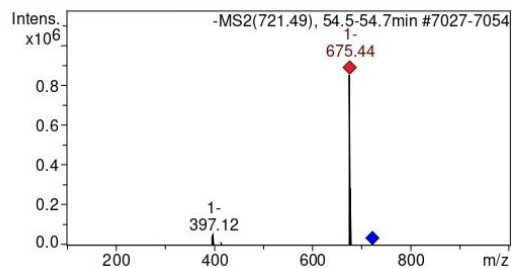
m/z	z	I	FWHM
241.00		699	0.13
282.63		505	0.13
303.88		537	0.13
306.91		1197	0.16
330.93	1-	17269	0.30
331.97	1-	6247	0.28
332.96	1-	1228	0.33
346.97		698	0.16
374.97		161712	0.31
375.96		6655	0.23

Compound Spectrum List Report

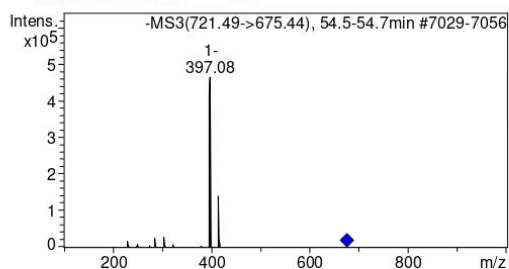
Cmpd 30, AutoMSn(721.49), 54.6 min



m/z	z	I	FWHM
324.94		47306	0.31
653.44	1-	49972	0.34
675.47	1-	258509	0.32
676.46	1-	90858	0.34
711.47	1-	75238	0.34
721.51	1-	970067	0.36
722.45	1-	369951	0.33
723.46	1-	118778	0.33
789.48	1-	147609	0.35
790.46	1-	57519	0.33



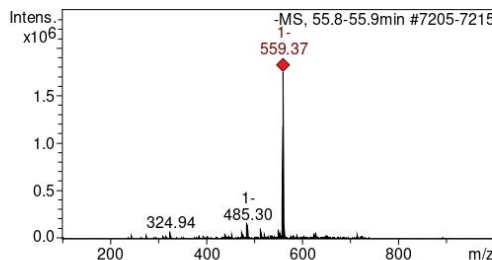
m/z	z	I	FWHM
397.12	1-	52663	0.32
398.11	1-	13652	0.25
399.23	1-	1665	0.13
415.17	1-	12037	0.24
416.12	1-	2620	0.26
653.21		1668	0.52
653.44		2634	0.46
675.47	1-	852155	0.42
676.35	1-	283765	0.36
677.30		13196	0.38



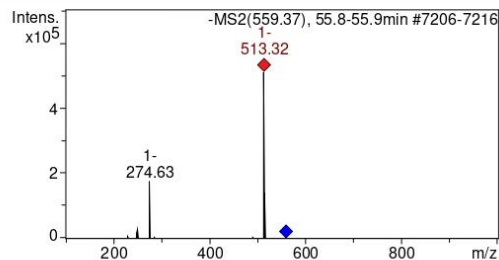
m/z	z	I	FWHM
230.47	1-	17672	0.34
249.34	1-	6707	0.23
274.61		4475	0.39
284.99		25567	0.23
303.83	1-	27033	0.29
322.73	1-	5034	0.33
397.08	1-	465159	0.35
398.05	1-	60987	0.29
415.10	1-	140152	0.27
416.10	1-	21201	0.20

Compound Spectrum List Report

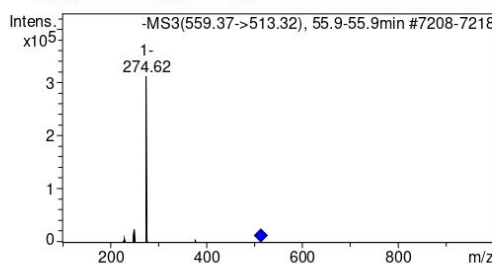
Cmpd 31, AutoMSn(559.37), 55.9 min



m/z	z	I	FWHM
324.94		78975	0.33
474.31		69148	0.30
485.30	1-	158717	0.30
513.34	1-	103076	0.25
549.34	1-	90445	0.34
559.38	1-	1747927	0.35
560.34	1-	574326	0.32
561.34	1-	136321	0.31
623.32		54644	0.32
627.34		66186	0.32



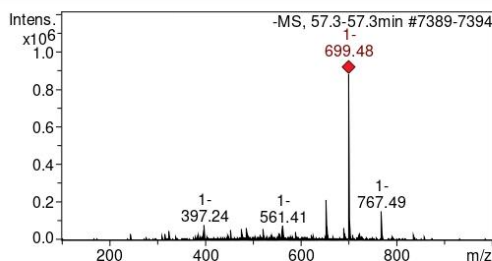
m/z	z	I	FWHM
230.42	1-	7055	0.19
249.35		26887	0.24
274.63	1-	174297	0.32
275.68	1-	36170	0.34
285.21		2480	0.21
491.20		2960	0.22
512.52		18274	0.15
513.34	1-	510933	0.41
514.25	1-	140527	0.37
515.25	1-	9596	0.32



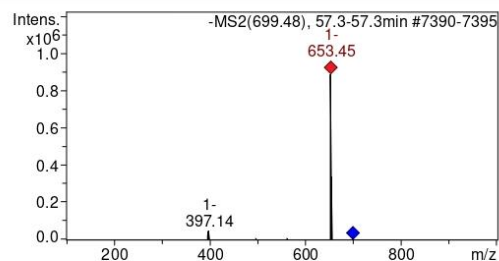
m/z	z	I	FWHM
134.50		574	0.13
228.57		3091	0.26
230.36		7845	0.35
249.36	1-	24596	0.26
250.37	1-	1247	0.17
255.82		754	0.34
274.62	1-	311476	0.30
275.65	1-	49963	0.28
276.75	1-	1625	0.33
376.88		3664	0.13

Compound Spectrum List Report

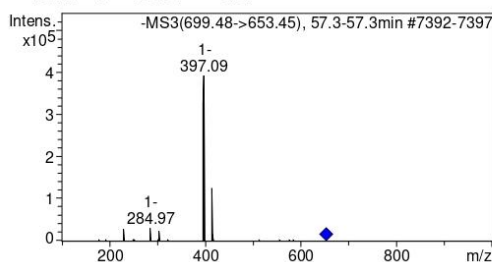
Cmpd 32, AutoMSn(699.48), 57.3 min



m/z	z	I	FWHM
397.24	1-	77453	0.30
487.34	1-	65123	0.28
561.41	1-	73847	0.30
653.48	1-	215844	0.29
654.48	1-	69437	0.35
689.45	1-	64432	0.30
699.50	1-	879501	0.38
700.45	1-	353208	0.32
701.45	1-	102136	0.33
767.49	1-	153261	0.34



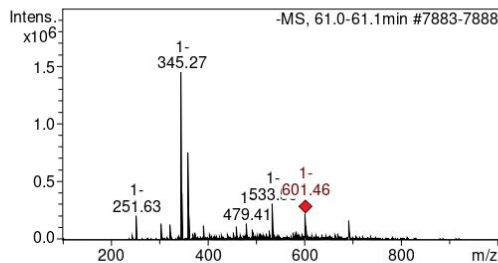
m/z	z	I	FWHM
397.14	1-	51013	0.25
398.12	1-	12455	0.18
415.06		2841	0.24
497.26		5051	0.13
562.38		4641	0.13
650.89		3041	0.13
652.02		4352	0.16
653.48	1-	884029	0.43
654.37	1-	281152	0.43
655.36	1-	17940	0.16



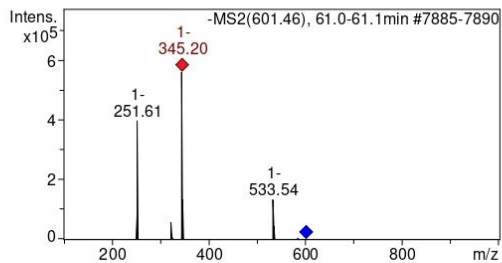
m/z	z	I	FWHM
230.45	1-	28048	0.28
249.33		3381	0.20
284.97	1-	31060	0.20
285.97	1-	3368	0.15
303.85	1-	23247	0.36
322.66		3276	0.34
397.09	1-	391889	0.34
398.07	1-	58919	0.27
415.12	1-	125777	0.25
416.18	1-	9284	0.30

Compound Spectrum List Report

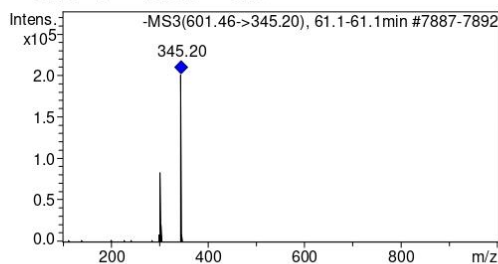
Cmpd 33, AutoMSn(601.46), 61.1 min



m/z	z	I	FWHM
251.63	1-	204377	0.28
304.05	1-	139538	0.30
345.27	1-	1444899	0.32
346.25	1-	407226	0.30
359.29	1-	752607	0.31
360.25	1-	202732	0.32
479.41	1-	142996	0.29
533.55	1-	313515	0.37
601.48	1-	224667	0.41
691.55	1-	164325	0.42



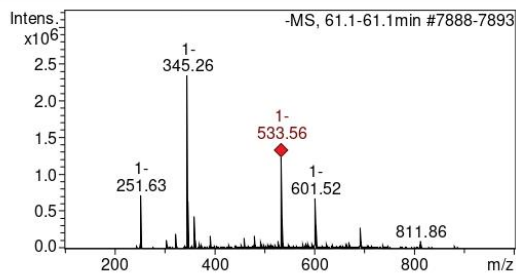
m/z	z	I	FWHM
251.61	1-	396532	0.33
252.66	1-	55679	0.27
322.85	1-	58137	0.29
323.91	1-	11542	0.40
345.22	1-	560051	0.37
346.13	1-	131359	0.34
532.76	-	6505	0.13
533.54	1-	132872	0.42
534.53	1-	71019	0.28
535.51	1-	8167	0.36



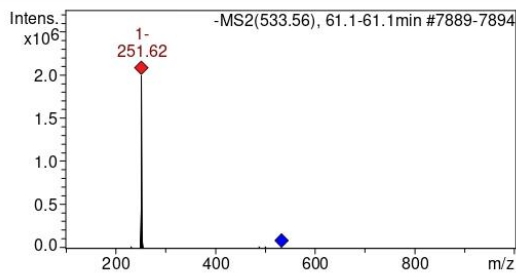
m/z	z	I	FWHM
228.68	-	1408	0.24
286.25	-	1411	0.13
299.82	1-	8267	0.26
300.88	1-	2019	0.13
301.94	1-	83270	0.30
302.97	1-	20615	0.36
304.00	1-	1755	0.13
345.20	-	201007	0.33
346.19	1-	8981	0.38
347.17	1-	1930	0.22

Compound Spectrum List Report

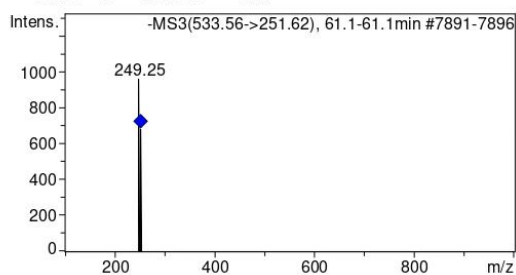
Cmpd 34, AutoMSn(533.56), 61.1 min



m/z	z	I	FWHM
251.63	1-	724023	0.30
322.89	1-	193808	0.29
345.26	1-	2338297	0.32
346.25	1-	634756	0.31
359.29	1-	436557	0.31
533.57	1-	1227782	0.37
534.56	1-	436305	0.37
601.52	1-	678550	0.43
602.46	1-	304760	0.35
691.55	1-	284631	0.44



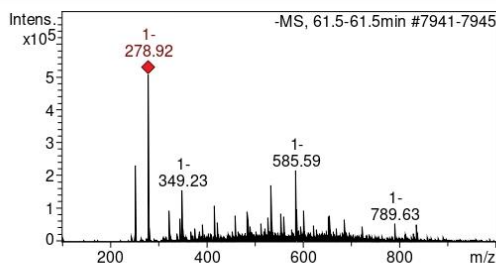
m/z	z	I	FWHM
232.63		18476	0.14
251.62	1-	1995102	0.37
252.61	1-	354141	0.35
253.69	1-	70402	0.26
485.01		3751	0.13
488.26		9363	0.13
500.39		9788	0.14
507.63		7639	0.13
533.45		3990	0.31
534.38		4572	0.13



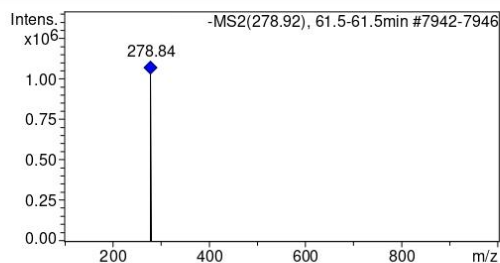
m/z	z	I	FWHM
249.25	958		0.13
251.75	682		0.13

Compound Spectrum List Report

Cmpd 35, AutoMSn(278.92), 61.5 min

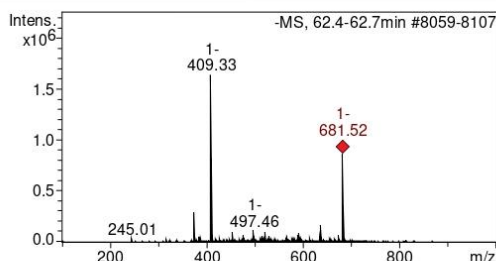


m/z	z	I	FWHM
251.64	1-	230497	0.30
278.91	1-	507033	0.30
279.94	1-	92770	0.33
322.90	1-	93037	0.30
349.23	1-	157453	0.29
417.26	1-	109508	0.29
533.55	1-	172182	0.36
585.59	1-	215007	0.36
586.56	1-	95142	0.31
601.52	1-	94607	0.35

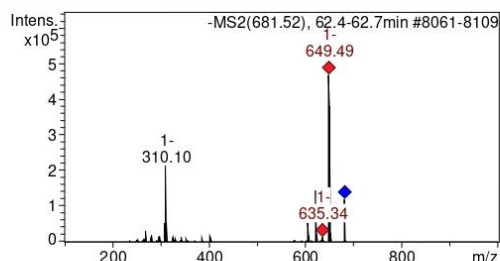


m/z	z	I	FWHM
274.88		438	0.13
275.75		865	0.13
276.84		3427	0.16
277.26		3673	0.13
277.88		766	0.13
278.84		1023923	0.40
291.63		1023	0.13

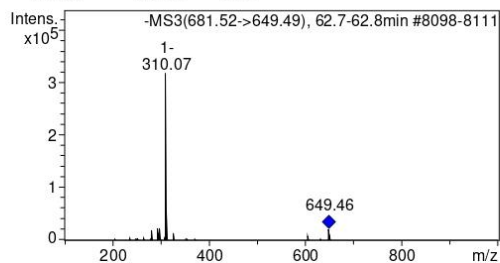
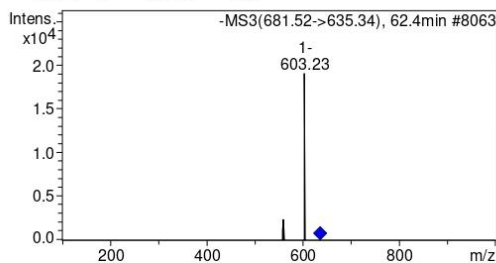
Cmpd 36, AutoMSn(681.52), 62.6 min



m/z	z	I	FWHM
373.32	1-	292152	0.32
409.33	1-	1637651	0.33
410.30	1-	521133	0.31
452.93	1-	100502	0.26
497.46	1-	113653	0.33
520.91	1-	99626	0.25
635.38	1-	166617	0.33
681.53	1-	862683	0.34
682.51	1-	351082	0.35
683.50	1-	131751	0.31



m/z	z	I	FWHM
308.05	1-	54233	0.27
310.10	1-	212998	0.30
311.14	1-	52150	0.26
605.49	1-	53238	0.36
621.51	1-	145327	0.34
622.48	1-	82381	0.33
649.52	1-	468038	0.39
650.42	1-	166469	0.41
651.47	1-	51606	0.32
681.51		120096	0.31

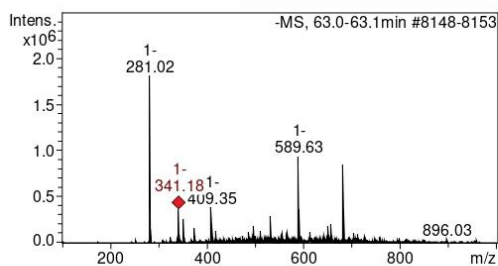


Compound Spectrum List Report

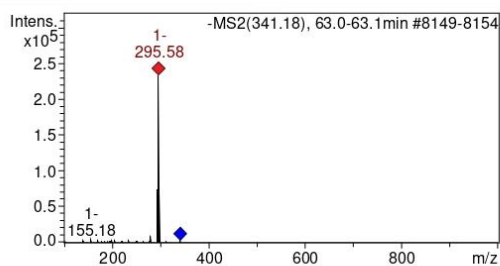
m/z	z	I	FWHM
559.21		2385	0.19
603.23	1-	19039	0.34
604.20	1-	7629	0.28

m/z	z	I	FWHM
280.76	1-	18991	0.21
294.33	1-	22104	0.28
295.41	1-	5094	0.17
297.48	1-	22284	0.25
310.07	1-	317077	0.32
311.10	1-	51692	0.29
312.19	1-	5048	0.29
326.85	1-	12792	0.18
605.47	1-	8090	0.16
649.46		21966	0.28

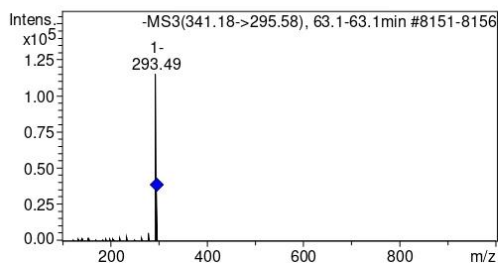
Cmpd 37, AutoMSn(341.18), 63.1 min



m/z	z	I	FWHM
281.02	1-	1808161	0.32
282.07	1-	405035	0.30
341.18	1-	362901	0.32
351.27	1-	255580	0.30
409.35	1-	386758	0.31
531.46	1-	295694	0.32
589.63	1-	933187	0.34
590.61	1-	361298	0.33
681.54	1-	851193	0.35
682.55	1-	354871	0.33



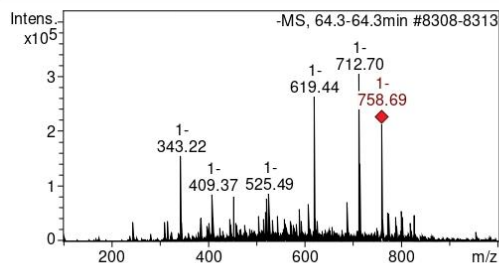
m/z	z	I	FWHM
155.18	1-	3964	0.24
169.68	1-	3704	0.24
205.38		3460	0.13
234.81	1-	2893	0.29
278.78	1-	9502	0.22
293.48	1-	74261	0.29
294.51	1-	14510	0.25
295.57	1-	232982	0.35
296.63	1-	67768	0.25
341.25		2831	0.14



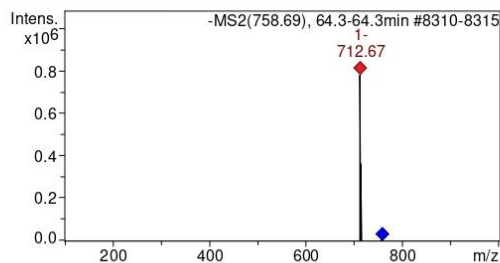
m/z	z	I	FWHM
153.13		1592	0.13
190.70		1704	0.23
205.44		1790	0.38
219.98		2322	0.14
234.66		2826	0.14
264.09		1878	0.17
278.78		5287	0.25
293.49	1-	114938	0.32
294.48	1-	16699	0.26
295.59		33742	0.31

Compound Spectrum List Report

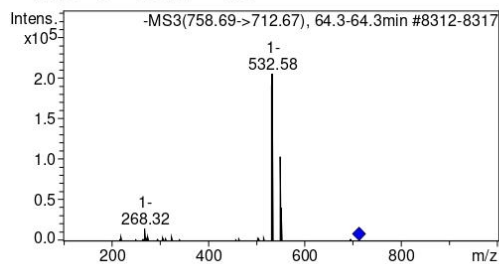
Cmpd 38, AutoMSn(758.69), 64.3 min



m/z	z	I	FWHM
343.22	1-	155082	0.30
409.37	1-	85365	0.27
452.95	1-	81479	0.28
525.49	1-	86699	0.34
619.44	1-	262248	0.35
620.42	1-	119720	0.35
712.70	1-	304862	0.34
713.69	1-	139985	0.33
758.70	1-	213309	0.33
759.68	1-	103512	0.33



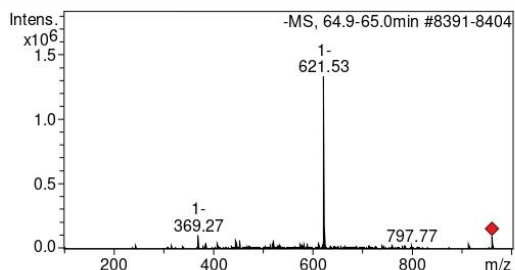
m/z	z	I	FWHM
469.26		2342	0.13
519.38		2307	0.13
593.63		2580	0.13
620.88		3168	0.13
685.63		2565	0.13
711.92		6195	0.16
712.71	1-	779399	0.46
713.59	1-	361422	0.39
714.52		8532	0.24
757.75		6339	0.13



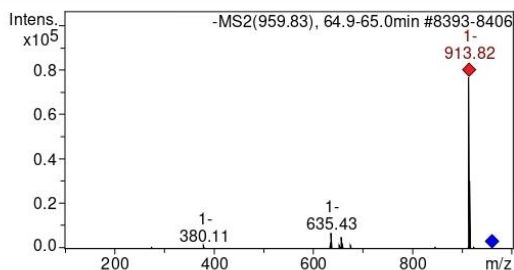
m/z	z	I	FWHM
220.35		5092	0.16
268.32	1-	14912	0.39
275.69	1-	5024	0.25
304.97	1-	4468	0.45
323.69	3-	3928	0.13
324.02	1-	5693	0.25
532.58	1-	205126	0.37
533.53	1-	75310	0.38
550.55	1-	102613	0.36
551.56	1-	40437	0.36

Compound Spectrum List Report

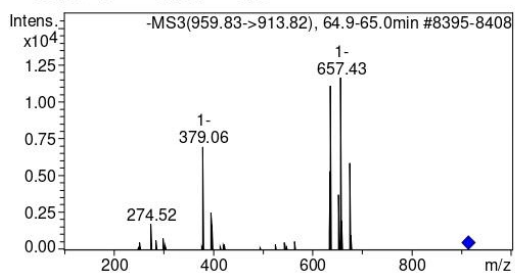
Cmpd 39, AutoMSn(959.83), 65.0 min



m/z	z	I	FWHM
369.27	1-	106616	0.25
445.44		62323	0.33
452.93		65282	0.31
520.95		63979	0.26
611.48		50315	0.24
621.53	1-	1328168	0.38
622.45	1-	546958	0.34
623.45	1-	149182	0.34
959.85	1-	98772	0.34
960.82	1-	52162	0.33



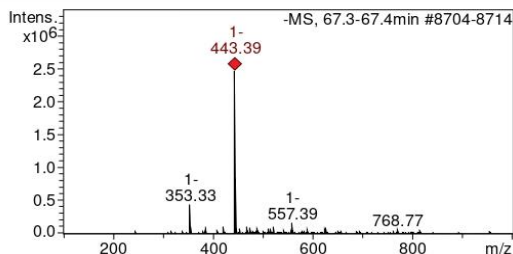
m/z	z	I	FWHM
380.11	1-	1256	0.15
635.43	1-	6769	0.30
636.47	1-	1730	0.16
653.45	1-	1410	0.28
657.45	1-	5009	0.40
658.33	1-	2071	0.36
675.48		1299	0.38
913.21		2228	0.19
913.82	1-	76691	0.34
914.81	1-	30329	0.45



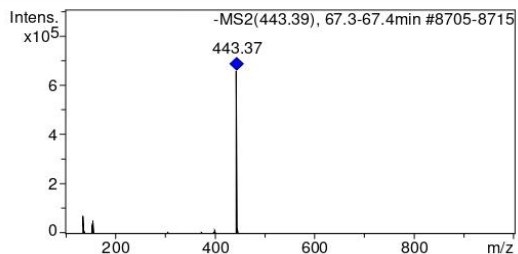
m/z	z	I	FWHM
274.52		1701	0.14
379.06	1-	6944	0.29
397.03		2462	0.28
635.38	1-	11067	0.24
636.39	1-	3094	0.30
653.05		1618	0.17
653.49	1-	3734	0.18
657.43	1-	11603	0.31
658.45	1-	1912	0.43
675.47	1-	5830	0.19

Compound Spectrum List Report

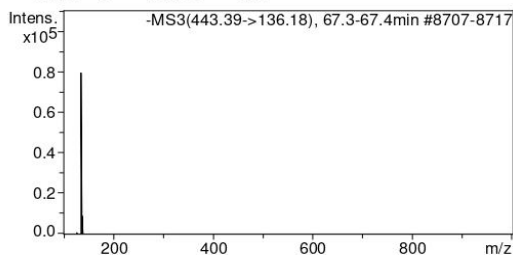
Cmpd 40, AutoMSn(443.39), 67.3 min



m/z	z	I	FWHM
353.33	1-	434365	0.33
354.33	1-	110997	0.32
421.37	1-	101414	0.33
443.40	1-	2463002	0.34
444.37	1-	828427	0.34
445.36	1-	159591	0.34
467.36		109205	0.32
473.42		93725	0.36
520.90		103660	0.24
557.39	1-	167495	0.29



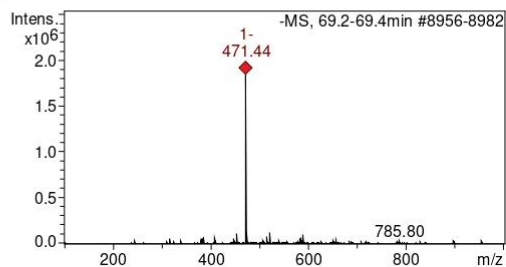
m/z	z	I	FWHM
136.18	1-	72021	0.30
137.21	1-	10174	0.27
153.96		13503	0.24
155.05	1-	49906	0.36
156.09	1-	8811	0.22
305.77		6205	0.14
373.47		5450	0.16
399.37	1-	13757	0.18
443.37		657331	0.33
444.32		21140	0.30



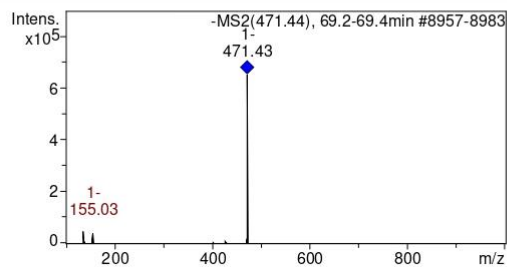
m/z	z	I	FWHM
126.88		496	0.13
136.16	1-	79443	0.23
137.20	1-	9035	0.27
138.19	1-	509	0.47

Compound Spectrum List Report

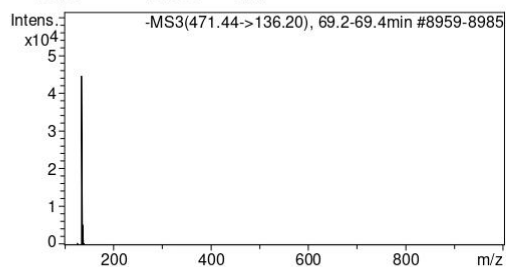
Cmpd 41, AutoMSn(471.44), 69.3 min



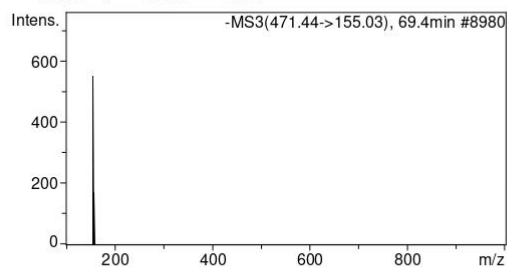
m/z	z	I	FWHM
384.89		69188	0.21
409.35		67526	0.27
452.91	1-	108148	0.27
471.45	1-	1837272	0.35
472.42	1-	679038	0.34
473.43	1-	123418	0.35
514.87		77795	0.29
520.91		126449	0.25
585.41		72937	0.26
588.90		102608	0.24



m/z	z	I	FWHM
136.19	1-	46240	0.28
137.24	1-	7755	0.16
153.94		5088	0.38
155.03	1-	37742	0.27
156.09	1-	4372	0.37
401.33		3180	0.23
427.44	1-	7893	0.32
428.39	1-	3856	0.16
471.43	1-	651027	0.40
472.38	1-	38760	0.33

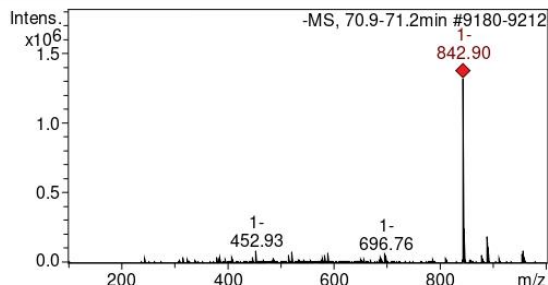


m/z	z	I	FWHM
127.88		227	0.13
136.16	1-	44566	0.27
137.21	1-	5437	0.27
139.30	1-	361	0.23

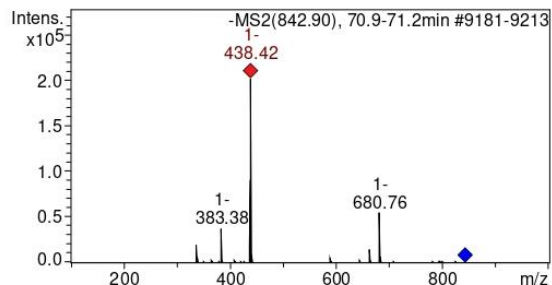


Compound Spectrum List Report

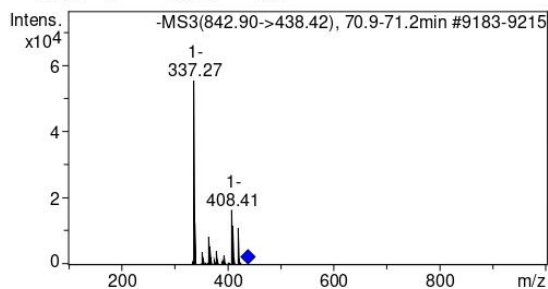
Cmpd 42, AutoMSn(842.90), 71.1 min



m/z	z	I	FWHM
452.93	1-	86434	0.28
520.93	1-	82619	0.29
588.93	1-	69018	0.29
842.92	1-	1316546	0.38
843.87	1-	769784	0.35
844.88	1-	243757	0.34
888.87	1-	187585	0.35
889.86	1-	108119	0.34
954.15	1-	66720	0.36
956.90	1-	87438	0.29



m/z	z	I	FWHM
337.30	1-	19267	0.31
383.38	1-	37677	0.29
384.33	1-	10636	0.27
438.43	1-	201315	0.34
439.38	1-	59022	0.36
440.42	1-	9192	0.28
662.72	1-	14659	0.38
663.73	1-	6529	0.34
680.76	1-	54640	0.32
681.73	1-	22231	0.38



m/z	z	I	FWHM
337.27	1-	55408	0.32
338.27	1-	12609	0.30
353.26	1-	3668	0.33
365.29	1-	8214	0.27
367.28	1-	5348	0.45
379.26	1-	3873	0.24
408.41	1-	16250	0.24
409.38	1-	5970	0.22
410.43	1-	11591	0.31
420.43	1-	10861	0.31

ANEXO D – Dados dos Espectros de massa da fração acetato de etila.

Compound Spectrum List Report

Analysis Info

Analysis Name D:\Data\Amazon\CA-2024\OUTROS\Kiany-UFMA\04-09-24\51303-4-Fr Foliar Acet etila_1-8_01_435.d
 Method 435.m
 Sample Name 51303-4-Fr Foliar Acet etila
 Comment

Acquisition Date 06/09/2024 13:36:06

Operator

Instrument

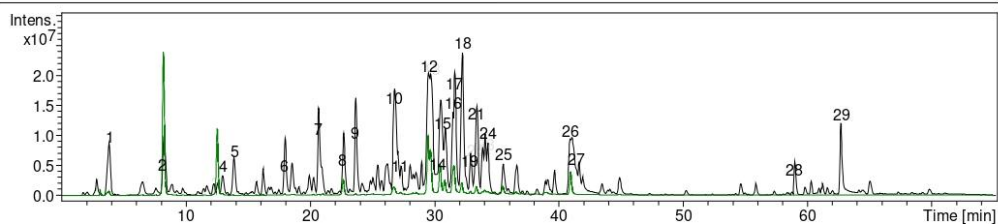
amaZon speed ETD

Acquisition Parameter

Ion Source Type ESI
 Mass Range Mode UltraScan
 Accumulation Time 10000 μ s
 SPS Target Mass 500 m/z

Ion Polarity Negative
 Scan Begin 100 m/z
 RF Level 71 %
 Averages 10 Spectra

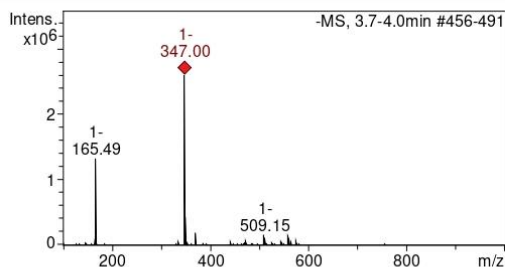
Alternating Ion Polarity off
 Scan End 1000 m/z
 Trap Drive 60.2
 n/a n/a



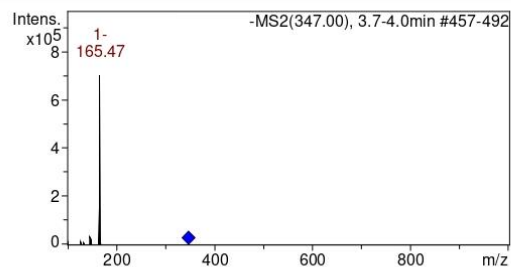
#	RT [min]	Chromatogram	Area	Area %	S/N
1	3.9		n.a.	n.a.	n.a.
2	8.1		n.a.	n.a.	n.a.
3	12.4		n.a.	n.a.	n.a.
4	13.0		n.a.	n.a.	n.a.
5	13.9		n.a.	n.a.	n.a.
6	17.9		n.a.	n.a.	n.a.
7	20.6		n.a.	n.a.	n.a.
8	22.6		n.a.	n.a.	n.a.
9	23.6		n.a.	n.a.	n.a.
10	26.7		n.a.	n.a.	n.a.
11	27.2		n.a.	n.a.	n.a.
12	29.5		n.a.	n.a.	n.a.
13	29.8		n.a.	n.a.	n.a.
14	30.3		n.a.	n.a.	n.a.
15	30.6		n.a.	n.a.	n.a.
16	31.5		n.a.	n.a.	n.a.
17	31.6		n.a.	n.a.	n.a.
18	32.2		n.a.	n.a.	n.a.
19	32.8		n.a.	n.a.	n.a.
20	33.3		n.a.	n.a.	n.a.
21	33.4		n.a.	n.a.	n.a.
22	33.8		n.a.	n.a.	n.a.
23	34.2		n.a.	n.a.	n.a.
24	34.3		n.a.	n.a.	n.a.
25	35.5		n.a.	n.a.	n.a.
26	40.9		n.a.	n.a.	n.a.
27	41.4		n.a.	n.a.	n.a.
28	58.9		n.a.	n.a.	n.a.
29	62.7		n.a.	n.a.	n.a.

Compound Spectrum List Report

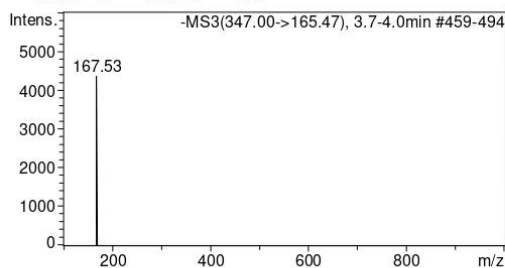
Cmpd 1, AutoMSn(347.00), 3.9 min



m/z	z	I	FWHM
165.49	1-	1320006	0.29
166.55	1-	96244	0.29
347.01	1-	2595583	0.32
347.99	1-	435799	0.29
349.03	1-	86039	0.29
369.03	1-	188627	0.25
471.15	1-	62670	0.28
509.15	1-	152136	0.25
511.15	1-	118378	0.28
559.15	1-	143492	0.30



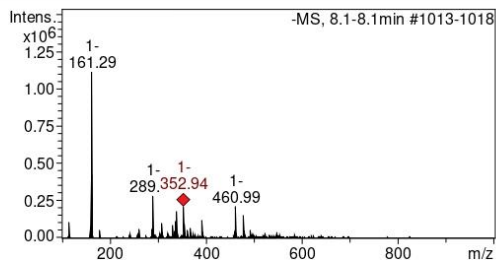
m/z	z	I	FWHM
100.69		18837	0.28
119.51		2666	0.17
127.87	1-	12404	0.24
134.11		9802	0.20
146.66	1-	35724	0.27
147.69	1-	2423	0.28
164.55		1353	0.22
165.47	1-	702301	0.31
166.49	1-	51611	0.30
167.60	1-	4723	0.23



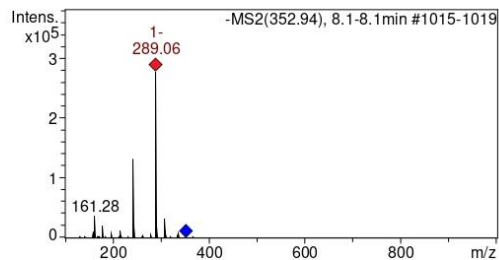
m/z	z	I	FWHM
167.53		4364	0.23

Compound Spectrum List Report

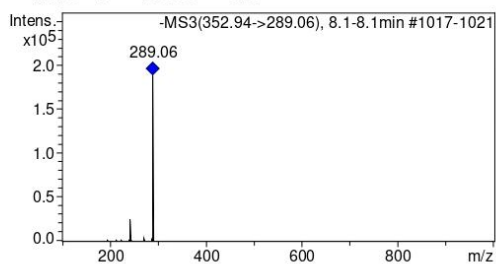
Cmpd 2, AutoMSn(352.94), 8.1 min



m/z	z	I	FWHM
115.30	1-	104998	0.28
161.29	1-	1111477	0.28
289.08	1-	287037	0.29
307.95	1-	97442	0.28
336.93	1-	113667	0.28
338.94	1-	179523	0.30
352.95	1-	211138	0.31
391.89	1-	118588	0.27
460.99	1-	212268	0.32
479.03	1-	150593	0.35



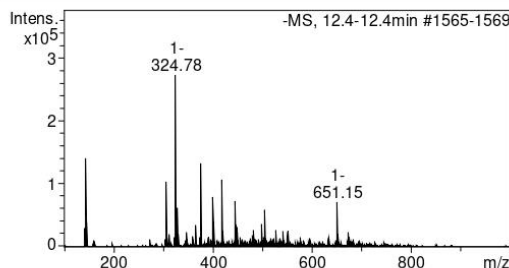
m/z	z	I	FWHM
159.16		9438	0.25
161.28		37104	0.23
178.04		19214	0.26
215.74	1-	11204	0.28
242.97	1-	131086	0.27
244.03	1-	18678	0.30
289.05	1-	276927	0.31
290.07	1-	42785	0.26
291.15	1-	18448	0.17
307.94	1-	32059	0.31



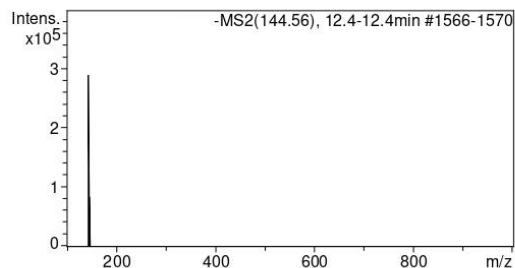
m/z	z	I	FWHM
166.50		682	0.13
195.88		844	0.13
196.88		601	0.13
213.38		1169	0.13
224.13		1122	0.13
240.88		1218	0.13
243.00		24234	0.20
270.23		3096	0.21
287.88		2193	0.13
289.06		188099	0.30

Compound Spectrum List Report

Cmpd 3, AutoMSn(144.56), 12.4 min

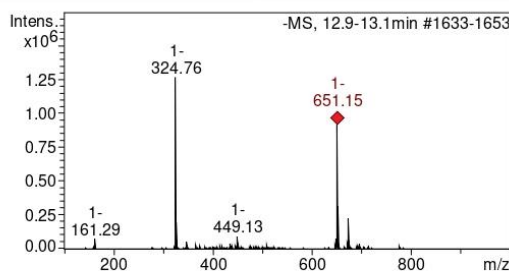


m/z	z	I	FWHM
144.56	1-	140662	0.30
305.91	1-	104171	0.28
324.78	1-	272946	0.30
328.92	1-	61228	0.31
375.08	1-	131626	0.32
401.09	1-	80036	0.31
419.12	1-	107205	0.28
445.15	1-	73247	0.30
505.07	1-	57915	0.31
651.15	1-	71858	0.32

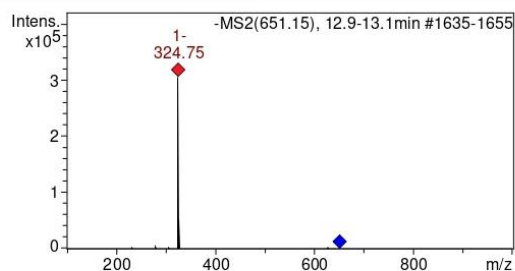


m/z	z	I	FWHM
143.42		1851	0.18
143.82		658	0.22
144.54	1-	288691	0.30
145.52	1-	33927	0.30
146.55	1-	4789	0.24
147.50	1-	438	0.13
161.37		893	0.33

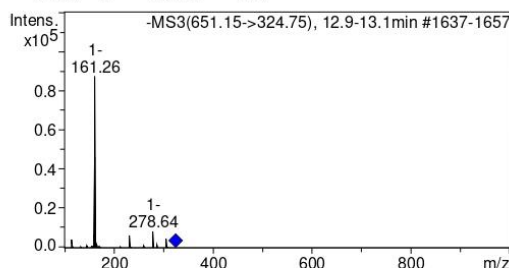
Cmpd 4, AutoMSn(651.15), 13.0 min



m/z	z	I	FWHM
161.29	1-	75517	0.26
324.76	1-	1260725	0.30
325.80	1-	198778	0.29
449.13	1-	92262	0.26
649.18	1-	77337	0.28
651.16	1-	912216	0.36
652.13	1-	317626	0.31
653.13	1-	84225	0.31
673.16	1-	223606	0.29
674.15	1-	68471	0.25



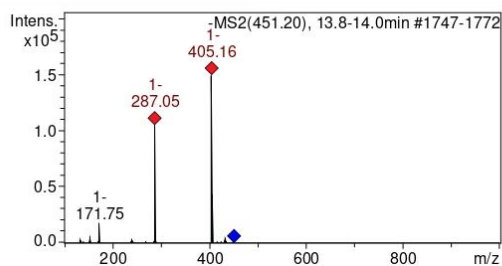
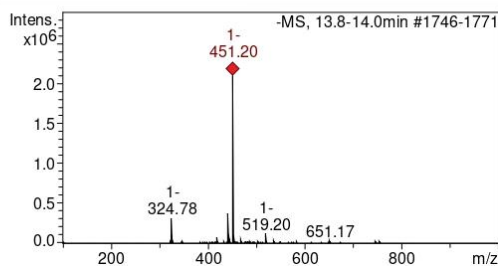
m/z	z	I	FWHM
232.63		1434	0.13
278.72	1-	4296	0.18
279.75	1-	1108	0.13
305.86		2421	0.19
324.75	1-	304503	0.34
325.74	1-	50430	0.22
577.13		1054	0.13
627.01		1066	0.13
628.88		1645	0.13
679.13		1033	0.13



Compound Spectrum List Report

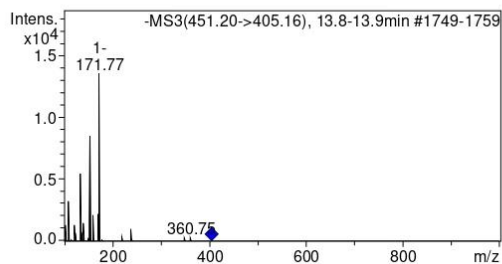
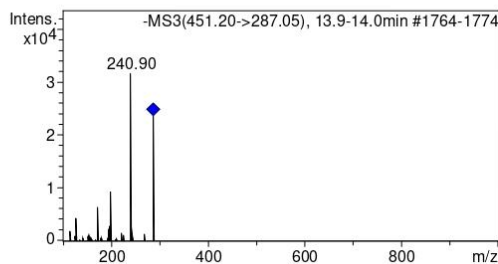
m/z	z	I	FWHM
115.28	1-	4375	0.29
160.21	1-	6269	0.27
161.26	1-	86926	0.28
162.32	1-	5235	0.28
165.54	1-	1732	0.19
232.55	1-	6419	0.25
259.70	1-	1205	0.23
278.64	1-	8465	0.30
286.89	1-	1511	0.40
305.90	1-	4747	0.22

Cmpd 5, AutoMSn(451.20), 13.9 min



m/z	z	I	FWHM
324.78	1-	316191	0.28
419.13	1-	83005	0.26
441.19	1-	373805	0.30
442.21	1-	70878	0.31
443.18	1-	118949	0.32
451.21	1-	2097745	0.33
452.18	1-	494647	0.30
453.20	1-	106980	0.30
468.18	1-	52983	0.28
519.20	1-	123825	0.30

m/z	z	I	FWHM
134.11	1-	3209	0.22
152.90	1-	3897	0.19
171.75	1-	17440	0.25
240.99	1-	2789	0.19
287.05	1-	104783	0.28
288.10	1-	18957	0.30
405.16	1-	149125	0.34
406.14	1-	34310	0.27
407.08	1-	3360	0.33
432.08	1-	3599	0.25

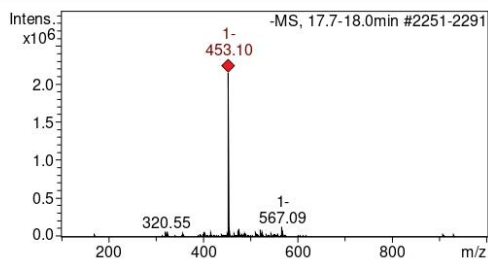


m/z	z	I	FWHM
115.22	1-	1989	0.15
127.88	1-	4322	0.13
171.83	1-	6343	0.19
194.88	2-	2362	0.13
196.91	1-	2879	0.19
199.01	1-	9443	0.31
222.03	1-	1607	0.15
240.90	1-	31609	0.28
243.09	1-	2358	0.28
287.05	1-	23476	0.32

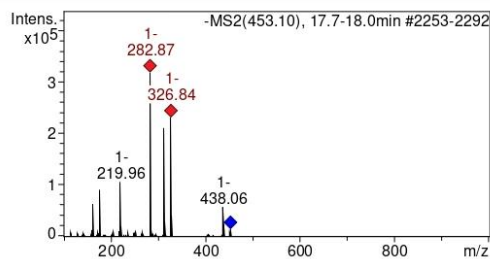
m/z	z	I	FWHM
108.84	3-	3192	0.13
109.03	3-	2826	0.47
134.10	1-	5431	0.29
140.35	3-	1476	0.14
152.89	1-	8454	0.17
159.25	1-	2089	0.13
170.76	2-	1875	0.13
171.21	2-	2155	0.16
171.77	1-	13498	0.37
172.91	1-	1520	0.15

Compound Spectrum List Report

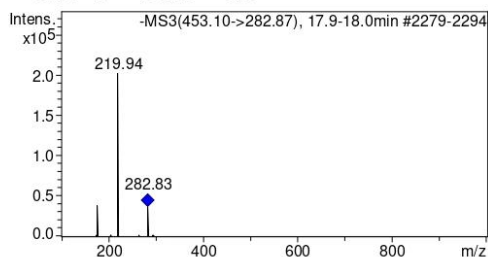
Cmpd 6, AutoMSn(453.10), 17.9 min



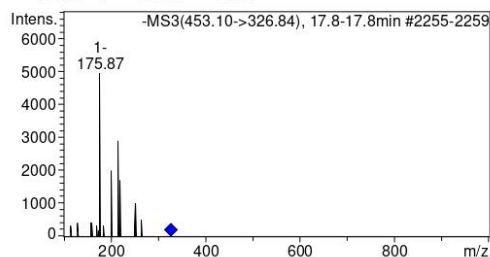
m/z	z	I	FWHM
320.55		70493	0.30
324.83		64506	0.34
403.15		58345	0.34
453.10	1-	2146335	0.32
454.08	1-	475471	0.30
455.08	1-	121160	0.31
475.10		94139	0.28
511.13		59277	0.36
521.09		91674	0.30
567.09	1-	135148	0.30



m/z	z	I	FWHM
161.31	1-	63086	0.27
175.99	1-	89516	0.24
219.96	1-	104347	0.31
282.86	1-	316901	0.32
283.88	1-	43037	0.28
312.19	1-	209384	0.31
313.24	1-	28711	0.34
326.83	1-	230197	0.33
327.87	1-	39428	0.26
438.06	1-	56049	0.33



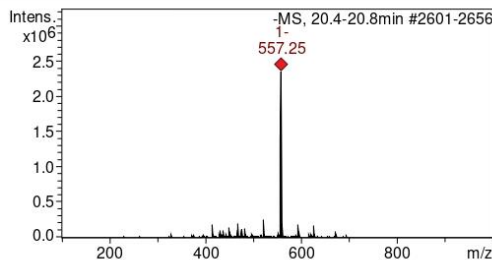
m/z	z	I	FWHM
173.88		1417	0.13
175.96		38999	0.27
201.11		734	0.37
204.27		1963	0.17
219.94		202335	0.32
251.36		808	0.19
263.98		1437	0.16
282.83		36204	0.29
293.42		1268	0.30
295.38		931	0.13



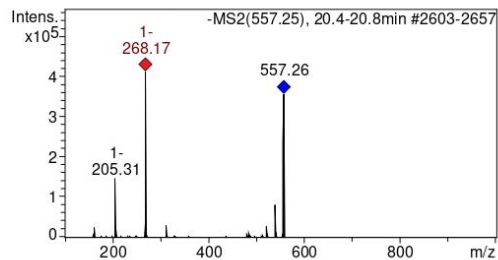
m/z	z	I	FWHM
128.88	1-	422	0.13
158.38		422	0.13
160.25		406	0.13
175.87	1-	4950	0.39
176.98	1-	912	0.14
201.01		1999	0.13
215.75		2890	0.13
219.93		1704	0.22
251.38		1000	0.20
264.00		503	0.13

Compound Spectrum List Report

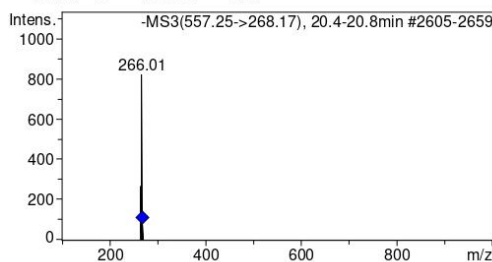
Cmpd 7, AutoMSn(557.25), 20.6 min



m/z	z	I	FWHM
415.15	1-	186470	0.31
449.13	1-	142745	0.30
467.14	1-	198893	0.31
483.14	1-	135063	0.30
521.25	1-	252320	0.26
557.27	1-	2348630	0.33
558.22	1-	699391	0.32
559.24	1-	184340	0.29
593.20	1-	189565	0.30
625.21	1-	165959	0.31



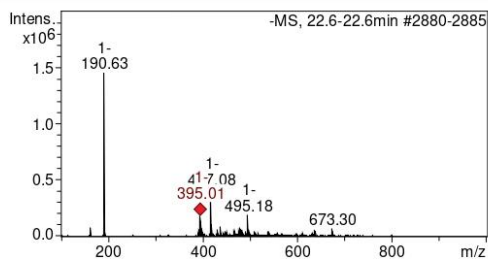
m/z	z	I	FWHM
161.28	1-	24220	0.30
205.31	1-	145993	0.29
206.36	1-	20480	0.32
268.17	1-	411909	0.31
269.19	1-	57234	0.29
312.20	1-	28777	0.27
521.23	1-	28215	0.26
539.27	1-	80079	0.21
540.24	1-	24345	0.29
557.26		355835	0.35



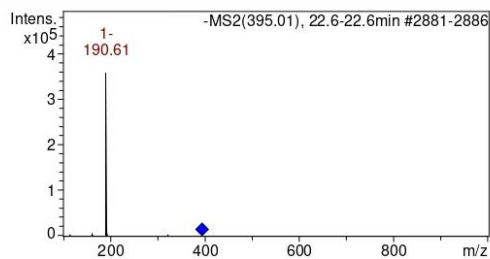
m/z	z	I	FWHM
264.13		266	0.13
266.01		822	0.13
266.88	3-	390	0.13
267.21	3-	435	0.49

Compound Spectrum List Report

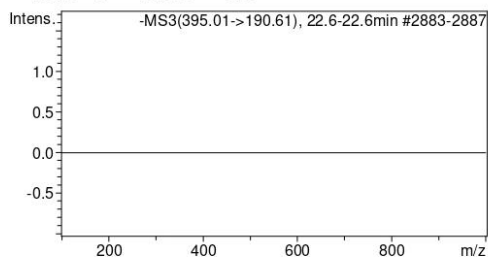
Cmpd 8, AutoMSn(395.01), 22.6 min



m/z	z	I	FWHM
161.29	1-	77017	0.25
190.63	1-	1451765	0.31
191.66	1-	167594	0.28
395.01	1-	179404	0.38
399.13	1-	69718	0.20
417.08	1-	424084	0.31
418.07	1-	104927	0.30
437.14	1-	91551	0.24
479.10	1-	79801	0.29
495.18	1-	194040	0.30

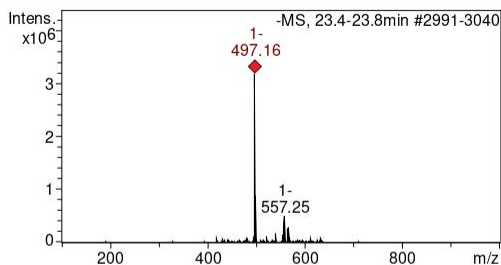


m/z	z	I	FWHM
115.32	1-	1979	0.24
161.32	1-	5590	0.35
162.30	1-	1408	0.21
190.61	1-	358144	0.33
191.64	1-	38590	0.23
238.88	1-	1380	0.13
321.75	1-	1993	0.13
347.88	1-	1104	0.13
349.76	1-	1252	0.13
379.00	1-	877	0.13

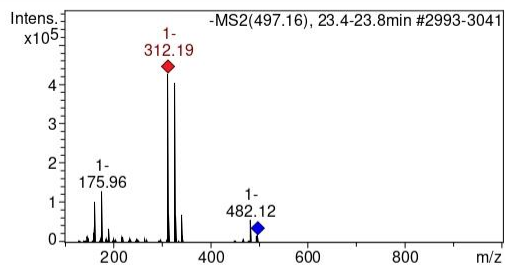


Compound Spectrum List Report

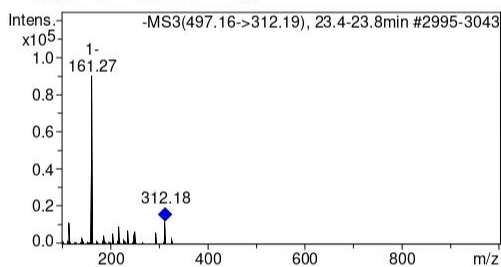
Cmpd 9, AutoMSn(497.16), 23.6 min



m/z	z	I	FWHM
497.16	1-	3182754	0.34
498.14	1-	884923	0.31
499.16	1-	233619	0.31
521.22		110047	0.33
539.23	1-	173844	0.29
555.20		134389	0.34
557.25	1-	500523	0.29
558.24	1-	137357	0.28
565.13	1-	266796	0.24
567.23	1-	290334	0.27



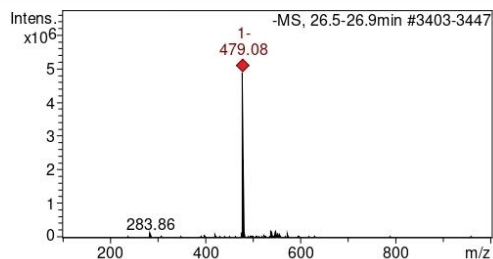
m/z	z	I	FWHM
160.25		23974	0.24
161.29	1-	101216	0.28
175.96	1-	128587	0.27
190.66	1-	33885	0.22
312.19	1-	426649	0.33
313.21	1-	67819	0.30
326.85	1-	402568	0.35
327.86	1-	65555	0.32
341.01	1-	67725	0.32
482.12	1-	55269	0.31



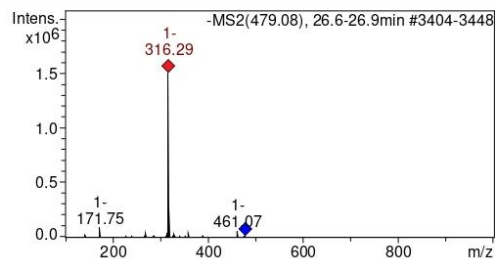
m/z	z	I	FWHM
115.27	1-	11195	0.28
160.23		5396	0.16
161.27	1-	90127	0.29
162.32	1-	4937	0.29
205.29	1-	5213	0.23
217.81	1-	9330	0.24
236.68		7153	0.27
249.34	1-	6490	0.36
293.31	1-	6211	0.28
312.18		11892	0.28

Compound Spectrum List Report

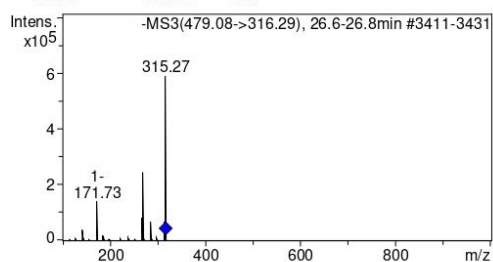
Cmpd 10, AutoMSn(479.08), 26.7 min



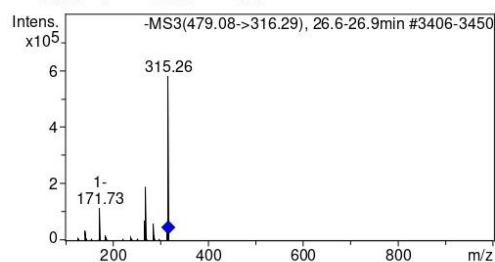
m/z	z	I	FWHM
283.86		114418	0.25
285.98		104860	0.28
477.10		133048	0.31
479.09	1-	4887031	0.31
480.07	1-	1115175	0.31
481.08	1-	362664	0.30
537.22		215404	0.32
539.23		190023	0.33
547.08		201399	0.31
573.22		124403	0.27



m/z	z	I	FWHM
171.75	1-	90122	0.29
268.18	1-	40906	0.32
314.42		34347	0.41
315.37		1478087	0.37
316.28	1-	1501381	0.37
317.33	1-	260642	0.34
318.43	1-	37481	0.33
328.84	1-	26299	0.36
358.96	1-	39786	0.27
461.07	1-	56920	0.31



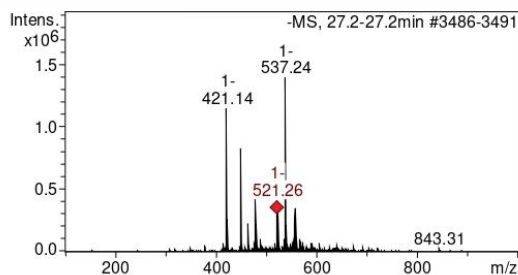
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	38939	0.28
171.73	1-	138453	0.29
267.09		81250	0.25
268.13	1-	243376	0.29
269.19	1-	41191	0.29
284.91	1-	66857	0.29
285.98	1-	57793	0.23
314.26		65702	0.21
315.27		590351	0.32
316.35		18997	0.19



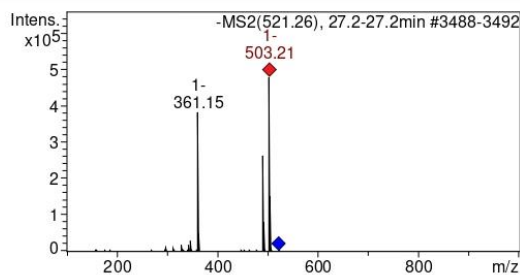
m/z	z	I	FWHM
142.43	1-	33771	0.28
171.73	1-	114605	0.31
267.10		68721	0.30
268.14	1-	190374	0.29
269.18	1-	41121	0.26
284.90	1-	60559	0.26
285.95	1-	39694	0.33
314.28		41352	0.29
315.26		581149	0.33
316.27		21649	0.21

Compound Spectrum List Report

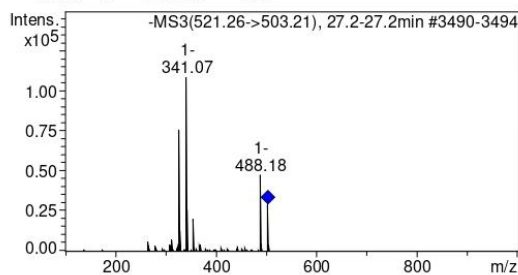
Cmpd 11, AutoMSn(521.26), 27.2 min



m/z	z	I	FWHM
421.14	1-	1149277	0.29
422.11	1-	256979	0.28
449.10	1-	823600	0.30
463.13	1-	226827	0.31
479.10	1-	439843	0.29
521.26	1-	296398	0.28
523.28	1-	358591	0.32
537.24	1-	1391445	0.31
538.21	1-	385752	0.30
557.24	1-	351321	0.32



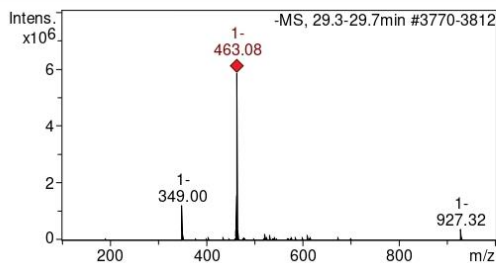
m/z	z	I	FWHM
343.16	1-	18464	0.29
347.08	1-	28917	0.34
361.15	1-	381453	0.33
362.11	1-	115545	0.25
491.22	1-	262531	0.34
492.20	1-	79357	0.31
493.24	1-	21697	0.31
503.23	1-	478464	0.37
504.17	1-	148871	0.29
505.16	1-	47922	0.21



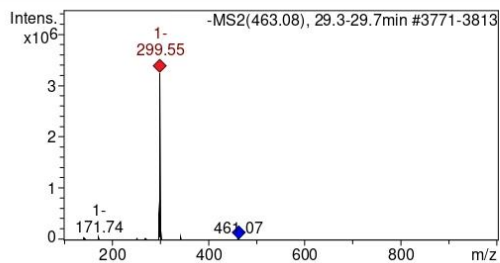
m/z	z	I	FWHM
311.17	1-	6998	0.22
325.91	1-	39478	0.33
326.93	1-	75679	0.29
327.94	1-	13242	0.27
341.07	1-	108267	0.33
342.06	1-	25973	0.32
355.04	1-	19781	0.18
488.18	1-	47729	0.30
489.20	1-	16736	0.28
503.20		29003	0.30

Compound Spectrum List Report

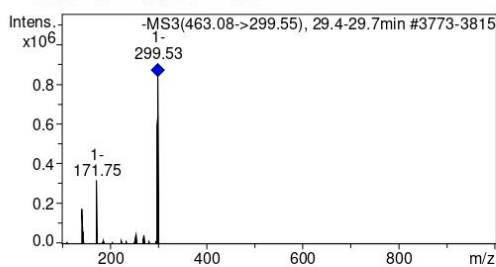
Cmpd 12, AutoMSn(463.08), 29.5 min



m/z	z	I	FWHM
349.00	1-	1220082	0.27
349.97	1-	194553	0.27
461.10	1-	354257	0.28
463.09	1-	5857828	0.32
464.06	1-	1403396	0.31
465.08	1-	333215	0.31
521.23	1-	225206	0.32
609.18	1-	192584	0.29
927.32	1-	380022	0.31
928.32	1-	171334	0.32



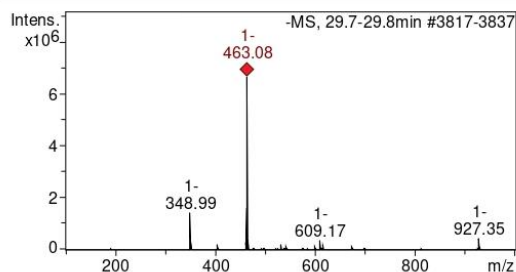
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	51593	0.29
171.74	1-	70359	0.33
268.17	1-	27302	0.31
297.66	1-	83664	0.32
298.64	1-	765991	0.35
299.55	1-	3239989	0.39
300.54	1-	565879	0.33
301.68	1-	80161	0.30
342.93	1-	68188	0.33
461.07	1-	45762	0.29



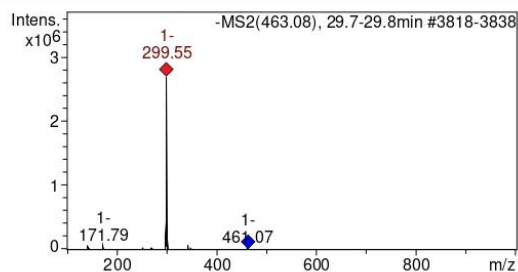
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	174477	0.30
171.75	1-	317849	0.28
172.79	1-	16870	0.27
186.45	1-	18487	0.30
253.50	1-	44258	0.29
269.22	1-	18978	0.32
270.28	1-	41121	0.31
297.59	1-	185135	0.29
298.57	1-	638140	0.34
299.53	1-	835177	0.35

Compound Spectrum List Report

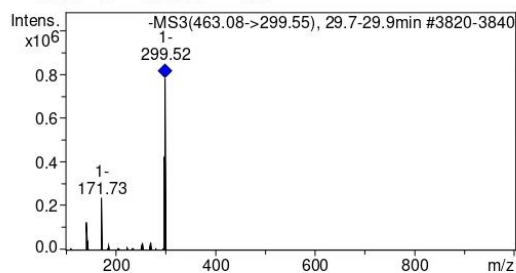
Cmpd 13, AutoMSn(463.08), 29.8 min



m/z	z	I	FWHM
348.99	1-	1426513	0.27
349.98	1-	302938	0.24
461.11		297510	0.32
463.09	1-	6650990	0.31
464.06	1-	1457170	0.31
465.08	1-	345604	0.31
531.08		198308	0.30
609.17	1-	375387	0.29
927.35	1-	445983	0.29
928.32	1-	231616	0.30



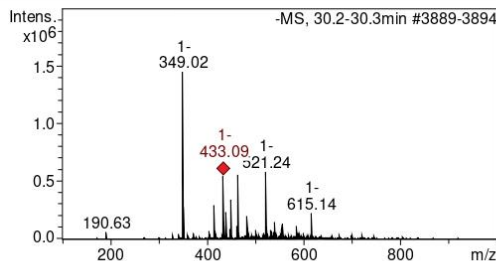
m/z	z	I	FWHM
142.47	1-	43891	0.28
171.79	1-	67540	0.28
268.16		19586	0.23
297.67		53254	0.31
298.68		443556	0.35
299.55	1-	2689938	0.40
300.53	1-	417188	0.40
301.67	1-	68513	0.34
342.97	1-	64602	0.26
461.07	1-	38871	0.29



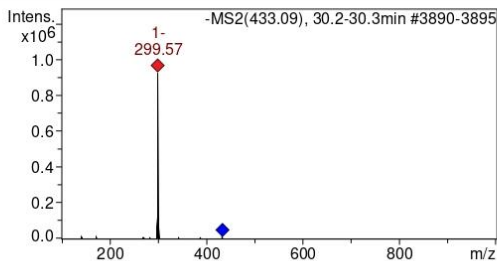
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	127258	0.29
171.73	1-	236099	0.27
172.82	1-	13533	0.35
186.41	1-	19079	0.25
253.48	1-	29250	0.27
268.16	1-	12797	0.19
270.28	1-	35086	0.32
297.57		85875	0.31
298.56	1-	423409	0.34
299.52	1-	780053	0.36

Compound Spectrum List Report

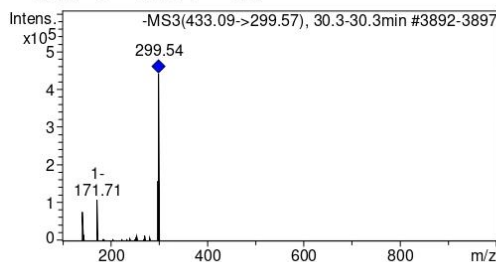
Cmpd 14, AutoMSn(433.09), 30.3 min



m/z	z	I	FWHM
349.02	1-	1444784	0.30
350.01	1-	279538	0.25
415.20	1-	288423	0.31
433.09	1-	552237	0.32
439.09	1-	235484	0.30
449.12	1-	339937	0.27
463.11	1-	556230	0.30
483.21	1-	199927	0.31
521.24	1-	579784	0.28
615.14	1-	221914	0.31



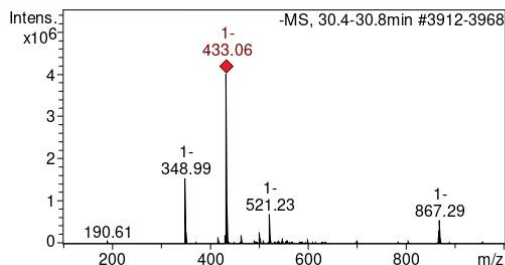
m/z	z	I	FWHM
142.39	1-	14902	0.16
171.76	1-	10525	0.22
268.15	1-	7806	0.27
282.89	1-	5491	0.14
298.65	1-	122777	0.33
299.57	1-	926797	0.37
300.56	1-	176337	0.32
301.66	1-	37011	0.24
343.13	1-	6469	0.31
432.88	1-	11348	0.13



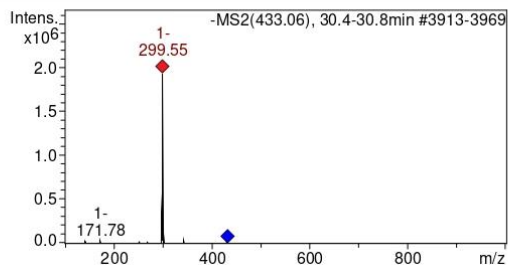
m/z	z	I	FWHM
142.42	1-	75463	0.25
171.71	1-	108160	0.29
172.72	1-	8157	0.37
240.88	1-	4667	0.13
253.49	1-	11683	0.29
269.22	1-	4496	0.16
270.30	1-	12613	0.38
280.70	1-	8650	0.30
298.56	1-	157792	0.29
299.54	1-	441292	0.33

Compound Spectrum List Report

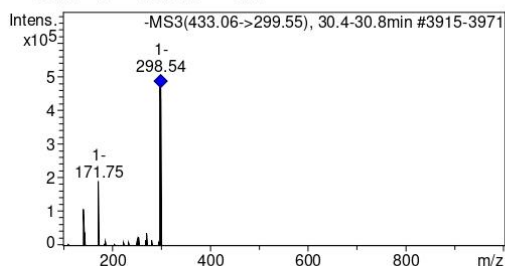
Cmpd 15, AutoMSn(433.06), 30.6 min



m/z	z	I	FWHM
348.99	1-	1547515	0.29
350.00	1-	273238	0.26
433.07	1-	4007286	0.33
434.05	1-	999968	0.30
435.08	1-	235295	0.30
501.06	1-	275997	0.30
521.23	1-	694380	0.30
522.22	1-	211026	0.29
867.29	1-	543644	0.35
868.29	1-	257248	0.29



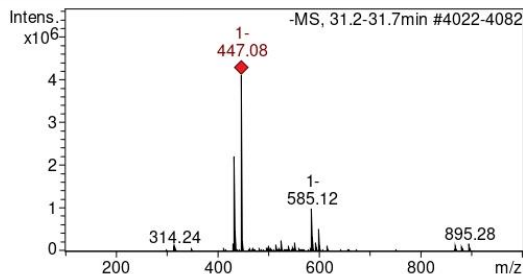
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	21211	0.29
171.78	1-	37553	0.20
251.42	1-	9677	0.26
297.68	1-	19908	0.37
298.65	1-	579657	0.35
299.55	1-	1925901	0.40
300.54	1-	327269	0.36
301.67	1-	48372	0.30
342.95	1-	31998	0.28
431.04	1-	21977	0.29



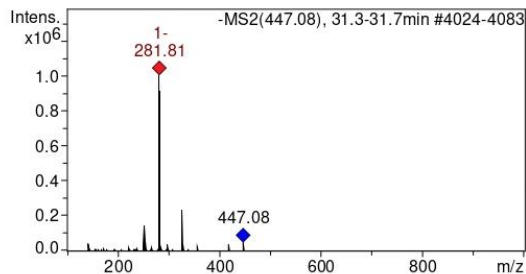
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	108142	0.30
171.75	1-	190191	0.27
251.38	1-	17121	0.23
253.52	1-	23969	0.26
269.21	1-	16296	0.28
270.25	1-	36552	0.23
280.72	1-	14357	0.26
297.55	1-	36366	0.36
298.54	1-	502316	0.35
299.54	1-	465558	0.35

Compound Spectrum List Report

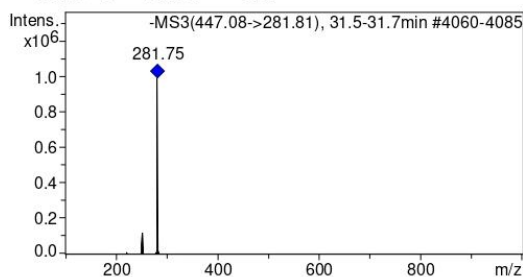
Cmpd 16, AutoMSn(447.08), 31.5 min



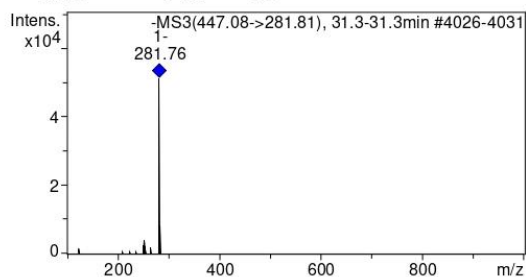
m/z	z	I	FWHM
433.08	1-	2202038	0.31
434.06	1-	461370	0.31
447.09	1-	4105075	0.32
448.06	1-	967348	0.32
449.08	1-	212363	0.30
525.29	1-	254397	0.34
585.12	1-	996244	0.29
586.11	1-	313353	0.30
593.19	1-	202813	0.32
599.12	1-	514987	0.31



m/z	z	I	FWHM
142.46	1-	41973	0.27
251.45	1-	145714	0.31
252.47	1-	49753	0.28
253.55	1-	51854	0.29
280.86	1-	39685	0.31
281.83	1-	1000616	0.34
282.78	1-	911228	0.35
283.83	1-	164178	0.31
326.83	1-	232041	0.30
447.08	1-	47171	0.30



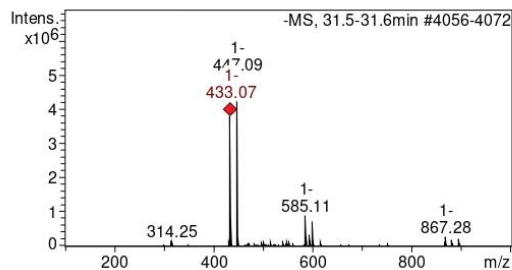
m/z	z	I	FWHM
222.06		7570	0.30
251.38	1-	116430	0.24
252.45	1-	36345	0.29
263.76		1683	0.13
278.69		5602	0.28
279.80		1955	0.29
280.84		50591	0.31
281.75		985836	0.37
282.74		18907	0.22
293.29		3229	0.17



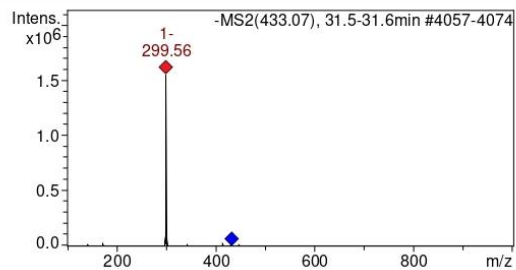
m/z	z	I	FWHM
123.51		1706	0.13
235.75		812	0.13
251.39	1-	4008	0.35
252.52	1-	1569	0.17
253.42		2096	0.22
263.88	3-	1819	0.13
264.13	3-	1235	0.40
280.77		5235	0.15
281.76	1-	51246	0.27
282.77	1-	8208	0.29

Compound Spectrum List Report

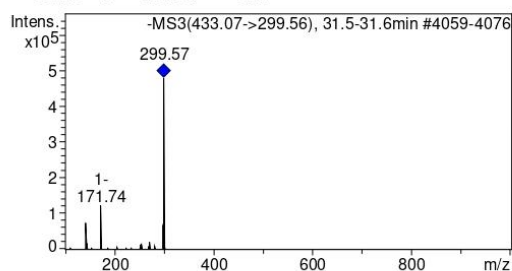
Cmpd 17, AutoMSn(433.07), 31.6 min



m/z	z	I	FWHM
433.07	1-	3789169	0.31
434.06	1-	803541	0.31
447.09	1-	5012308	0.31
448.06	1-	1163663	0.32
449.07	1-	255389	0.30
585.11	1-	889616	0.29
586.10	1-	281449	0.30
593.18	1-	330604	0.32
599.12	1-	715047	0.32
867.28	1-	282057	0.29



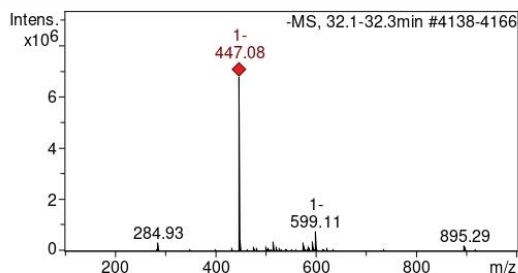
m/z	z	I	FWHM
142.49		13963	0.22
171.78	1-	18704	0.23
298.67		89701	0.32
299.56	1-	1548382	0.39
300.53	1-	276301	0.32
301.66	1-	67817	0.26
342.92		13020	0.21
414.99	1-	18707	0.18
431.08		10508	0.23
448.08		12942	0.26



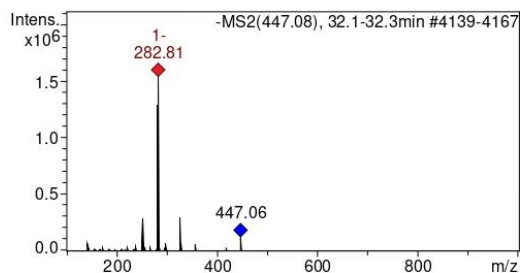
m/z	z	I	FWHM
142.43	1-	74050	0.29
143.46	1-	7853	0.24
171.74	1-	120794	0.26
172.81	1-	8115	0.33
205.17		6432	0.16
253.50	1-	15124	0.36
270.27	1-	21192	0.25
280.74	1-	8672	0.21
298.57		75216	0.32
299.57		478942	0.34

Compound Spectrum List Report

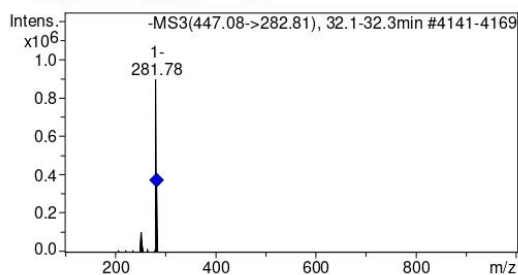
Cmpd 18, AutoMSn(447.08), 32.2 min



m/z	z	I	FWHM
284.93		329759	0.28
447.09	1-	6780821	0.32
448.07	1-	1436278	0.32
449.08	1-	395076	0.27
515.09	1-	387226	0.35
575.14		317202	0.31
593.18	1-	352460	0.33
599.11	1-	768513	0.30
600.10	1-	210088	0.34
895.29		227628	0.36



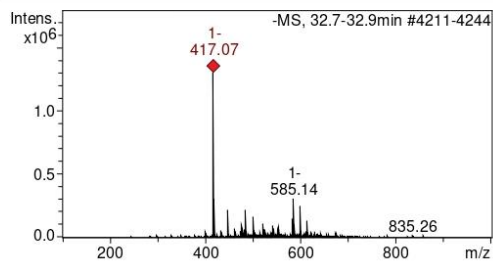
m/z	z	I	FWHM
142.46	1-	66626	0.29
251.43	1-	280797	0.29
252.47	1-	97906	0.24
281.84		1287469	0.33
282.81	1-	1530634	0.36
283.84	1-	287452	0.33
297.53	1-	67216	0.26
326.82	1-	296091	0.33
327.84	1-	62763	0.27
447.06		115970	0.31



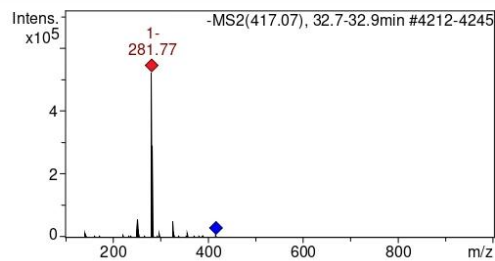
m/z	z	I	FWHM
222.07		7251	0.30
236.79		6784	0.35
251.41	1-	100549	0.28
252.44	1-	59636	0.30
253.52	1-	30813	0.21
263.97		11891	0.21
278.70		6450	0.28
280.87		30167	0.30
281.78	1-	898042	0.36
282.74	1-	335212	0.33

Compound Spectrum List Report

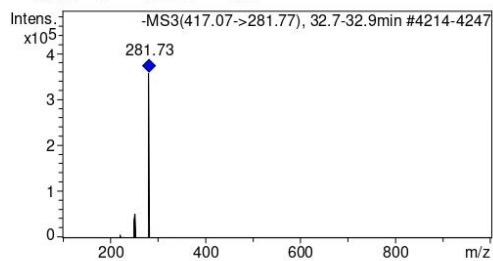
Cmpd 19, AutoMSn(417.07), 32.8 min



m/z	z	I	FWHM
417.08	1-	1298124	0.32
418.05	1-	300870	0.30
447.12	1-	218156	0.27
485.08	1-	213451	0.33
501.09	1-	159769	0.33
521.24	1-	110571	0.33
583.18	1-	145151	0.31
585.14	1-	309526	0.34
599.14	1-	246135	0.31
613.16	1-	129690	0.28



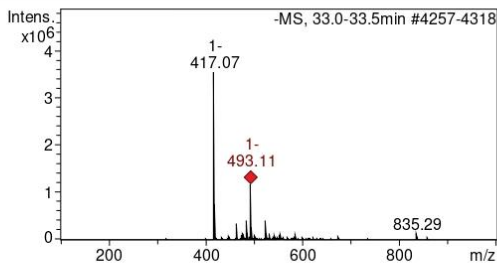
m/z	z	I	FWHM
142.44	1-	12302	0.27
251.40	1-	54877	0.24
252.45	1-	15622	0.27
253.52	1-	11811	0.31
281.77	1-	521684	0.32
282.76	1-	291562	0.32
283.83	1-	37897	0.33
297.50	1-	11885	0.18
326.83	1-	49376	0.32
356.96	1-	12510	0.25



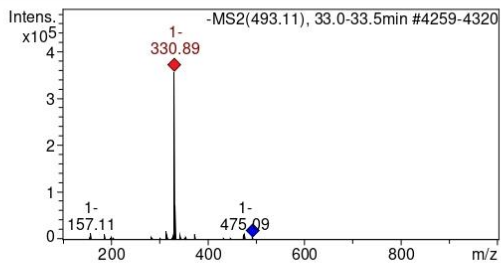
m/z	z	I	FWHM
221.63		605	0.13
222.09		5395	0.20
234.63		421	0.13
251.37	1-	50763	0.34
252.44	1-	15760	0.28
278.65		660	0.15
279.00		534	0.13
280.75		10311	0.35
281.73		357065	0.31
293.13		471	0.13

Compound Spectrum List Report

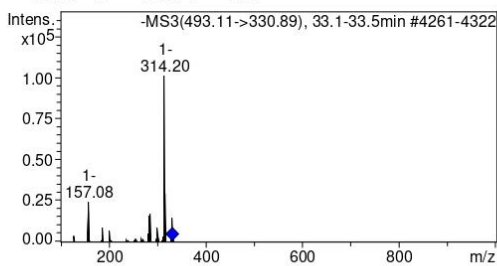
Cmpd 20, AutoMSn(493.11), 33.3 min



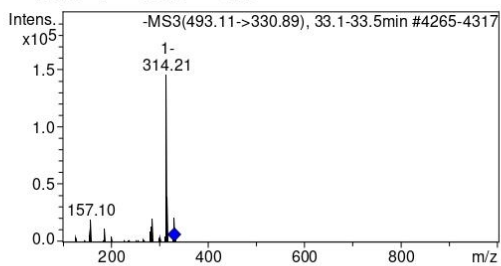
m/z	z	I	FWHM
417.07	1-	3541378	0.32
418.06	1-	739111	0.32
419.07	1-	170074	0.29
463.09	1-	331293	0.27
477.14	1-	136122	0.31
485.09	1-	407298	0.28
493.11	1-	1171827	0.32
494.10	1-	265245	0.33
523.26	1-	410399	0.30
525.26	1-	136074	0.25



m/z	z	I	FWHM
157.11	1-	12552	0.28
186.43	1-	11230	0.28
314.26	1-	16302	0.36
329.95	1-	316933	0.35
330.89	1-	355764	0.34
331.89	1-	70903	0.28
332.94	1-	9647	0.29
342.96	1-	9315	0.36
372.96	1-	10855	0.29
475.09	1-	11678	0.25



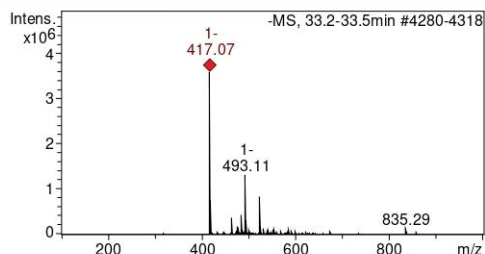
m/z	z	I	FWHM
157.08	1-	24346	0.29
186.37	1-	8737	0.26
201.09	1-	6475	0.18
282.82	1-	15602	0.28
284.89	1-	17143	0.31
285.96	1-	7006	0.20
299.63	1-	8715	0.16
314.20	1-	101278	0.35
315.26	1-	29731	0.30
329.84	1-	14665	0.30



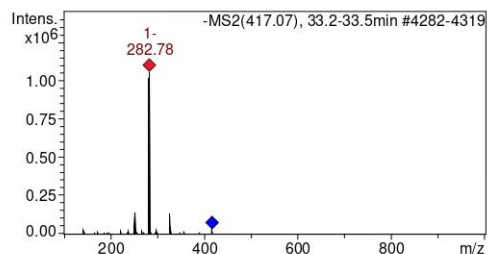
m/z	z	I	FWHM
157.10	1-	19245	0.28
186.35	1-	11073	0.32
281.73	1-	8879	0.23
282.82	1-	12665	0.29
284.88	1-	19633	0.22
314.21	1-	145559	0.29
315.28	1-	38441	0.25
316.33	1-	8237	0.22
329.87	1-	21176	0.24
332.93	1-	6825	0.26

Compound Spectrum List Report

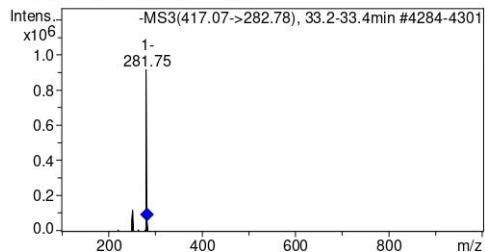
Cmpd 21, AutoMSn(417.07), 33.4 min



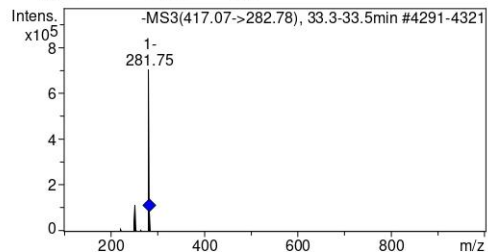
m/z	z	I	FWHM
417.07	1-	3582350	0.31
418.06	1-	752974	0.31
419.08	1-	166816	0.29
463.09	1-	362734	0.26
477.15		153246	0.31
485.09	1-	417212	0.27
493.11	1-	1321073	0.32
494.10	1-	309830	0.32
523.27	1-	822902	0.30
524.26	1-	228629	0.33



m/z	z	I	FWHM
142.43	1-	27169	0.27
251.42	1-	139602	0.29
252.47	1-	47643	0.27
281.83		1014556	0.35
282.77	1-	1055499	0.37
283.82	1-	179546	0.31
297.51	1-	23589	0.23
326.83	1-	132220	0.30
327.84	1-	24075	0.28
417.06		30588	0.28



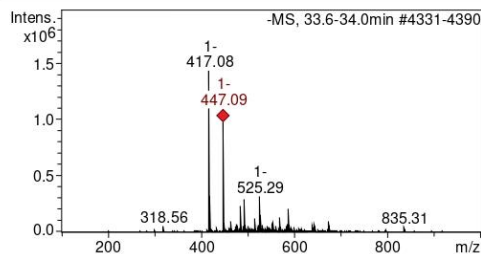
m/z	z	I	FWHM
222.03		8953	0.22
251.39	1-	121404	0.30
252.45	1-	46122	0.30
253.54	1-	3341	0.30
263.76		5149	0.13
278.77		5620	0.17
279.75		2313	0.13
280.86		14881	0.42
281.75	1-	914084	0.36
282.73	1-	56288	0.28



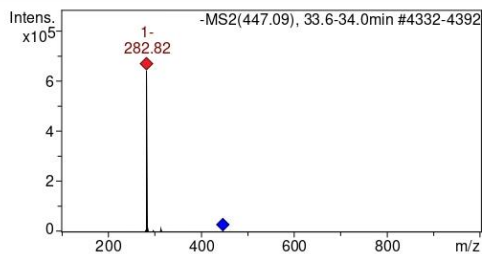
m/z	z	I	FWHM
155.02		2514	0.17
222.08	1-	7558	0.25
251.39	1-	114160	0.23
252.45	1-	33835	0.30
253.51	1-	6603	0.30
264.01		3455	0.17
278.63		2101	0.38
280.83		11705	0.23
281.75	1-	703832	0.35
282.78	1-	83145	0.34

Compound Spectrum List Report

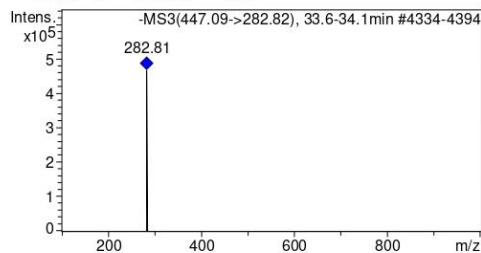
Cmpd 22, AutoMSn(447.09), 33.8 min



m/z	z	I	FWHM
417.08	1-	1430428	0.31
418.06	1-	318518	0.30
447.09	1-	971195	0.32
448.08	1-	242267	0.30
485.09	1-	226898	0.31
493.12	1-	290232	0.28
525.29	1-	314708	0.30
527.27	1-	141926	0.32
569.13	1-	128715	0.33
587.18	1-	202196	0.32



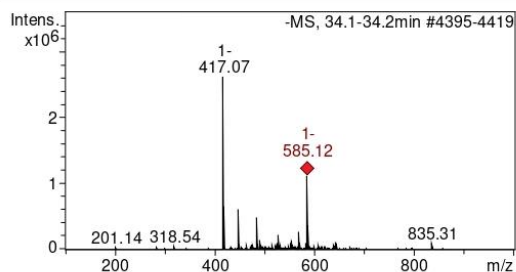
m/z	z	I	FWHM
278.65		1970	0.18
281.77		5736	0.13
282.82	1-	641401	0.41
283.80	1-	98578	0.34
284.92	1-	20361	0.32
298.48		3337	0.20
299.58		2740	0.34
313.17	1-	11766	0.30
314.20	1-	3334	0.29
378.92		2079	0.28



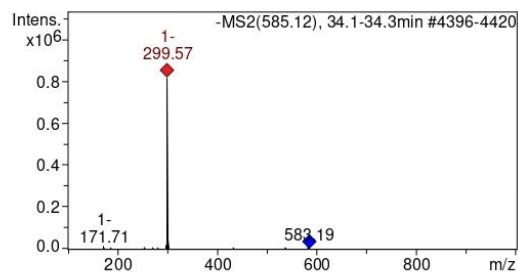
m/z	z	I	FWHM
223.13		772	0.13
252.63		276	0.13
267.13		382	0.13
279.75		455	0.13
280.50		706	0.13
281.74		1847	0.24
282.81		466467	0.42
284.63		633	0.13

Compound Spectrum List Report

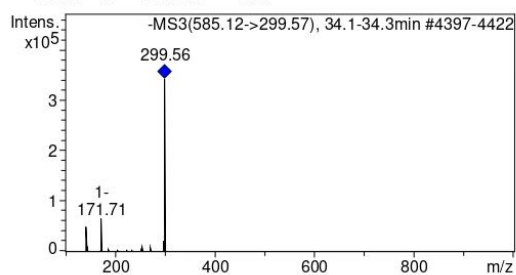
Cmpd 23, AutoMSn(585.12), 34.2 min



m/z	z	I	FWHM
417.07	1-	2614903	0.32
418.05	1-	652406	0.29
447.09	1-	608612	0.30
448.08	1-	140433	0.29
485.08	1-	489979	0.28
491.17	1-	140944	0.29
527.27	1-	223956	0.32
569.13	1-	263181	0.31
585.13	1-	1121366	0.33
586.10	1-	364324	0.31



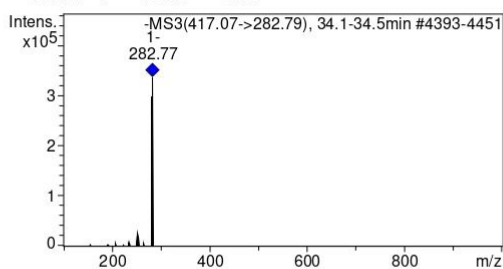
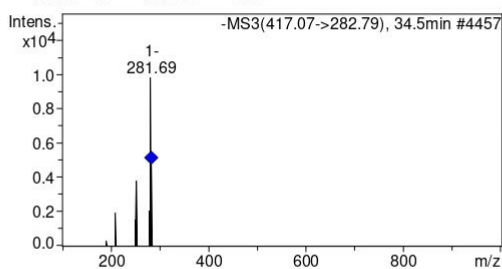
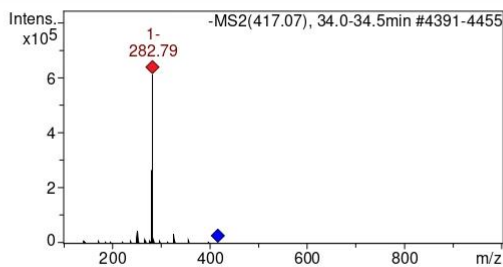
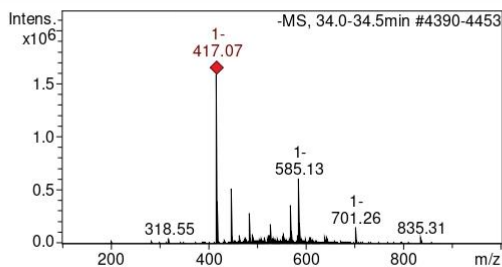
m/z	z	I	FWHM
171.71	1-	12611	0.27
186.43		7082	0.26
270.29	1-	8218	0.34
297.54	1-	15187	0.20
298.66	1-	7123	0.19
299.57	1-	816026	0.36
300.55	1-	134694	0.32
301.66	1-	19486	0.27
433.04		6355	0.31
583.19		22250	0.36



m/z	z	I	FWHM
142.43	1-	48234	0.25
143.44	1-	5086	0.39
171.71	1-	64464	0.28
172.75	1-	7389	0.33
186.34	1-	4657	0.24
253.46	1-	8258	0.24
270.23	1-	8721	0.27
297.48	1-	20988	0.26
298.55	1-	3422	0.31
299.56		342008	0.33

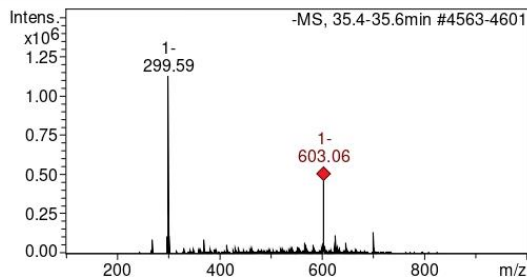
Compound Spectrum List Report

Cmpd 24, AutoMSn(417.07), 34.3 min

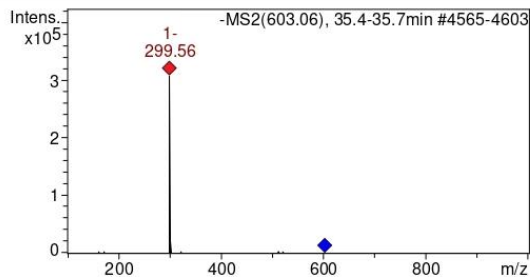


Compound Spectrum List Report

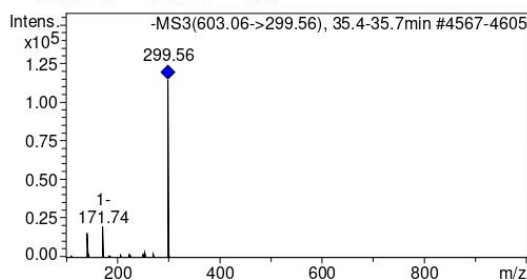
Cmpd 25, AutoMSn(603.06), 35.5 min



m/z	z	I	FWHM
268.20	1-	87488	0.30
297.50	1-	107548	0.32
299.59	1-	1127196	0.30
300.63	1-	195670	0.29
368.99	1-	87384	0.28
567.22	1-	68864	0.33
603.06	1-	460636	0.36
604.04	1-	170446	0.28
625.11	1-	117693	0.28
699.22	1-	137594	0.31



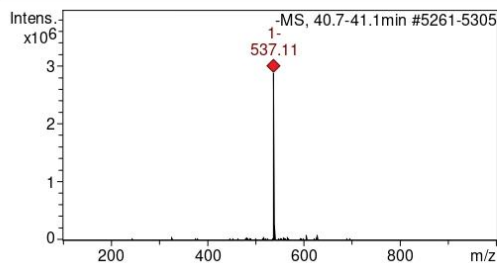
m/z	z	I	FWHM
161.26		1381	0.13
171.69		1824	0.27
186.34		1233	0.18
299.56	1-	307009	0.33
300.58	1-	44208	0.32
322.59	1-	3123	0.28
512.13		1585	0.13
521.25		1793	0.13
534.25		1330	0.13
567.23		1105	0.14



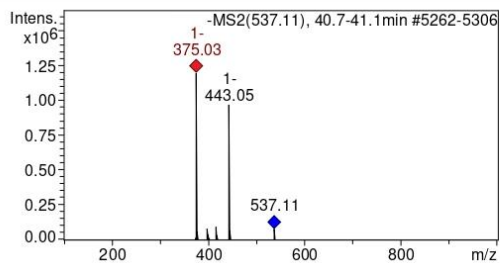
m/z	z	I	FWHM
142.40	1-	15985	0.26
171.74	1-	19409	0.24
207.38		1287	0.13
224.17	1-	1332	0.19
225.20	1-	1530	0.23
251.27	1-	1538	0.14
253.48		3145	0.30
270.22	1-	2341	0.28
271.36	1-	1308	0.14
299.56		114236	0.32

Compound Spectrum List Report

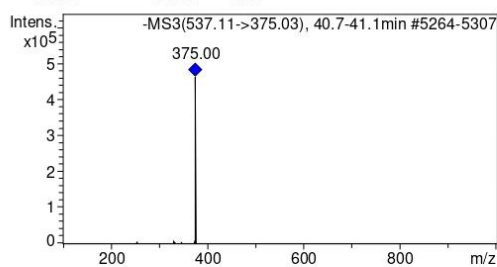
Cmpd 26, AutoMSn(537.11), 40.9 min



m/z	z	I	FWHM
327.02		32702	0.32
483.29		37073	0.29
537.12	1-	2870648	0.32
538.08	1-	934616	0.31
539.10	1-	235480	0.30
540.12	1-	36487	0.31
559.11		37856	0.24
567.14		45259	0.27
605.07		91854	0.31
627.08		88109	0.29



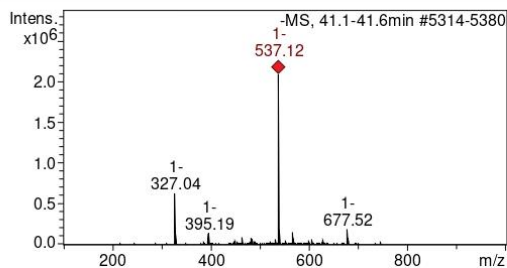
m/z	z	I	FWHM
375.04	1-	1192910	0.39
375.97	1-	311740	0.34
377.03	1-	57418	0.29
399.05	1-	79616	0.31
401.02	1-	36613	0.27
417.07	1-	90046	0.32
443.05	1-	965988	0.37
443.97	1-	277319	0.33
445.02	1-	64375	0.29
537.11		78551	0.28



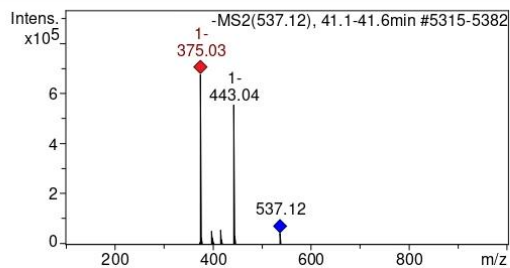
m/z	z	I	FWHM
251.35		1733	0.28
253.46		2333	0.28
254.49		1187	0.18
330.96	1-	6169	0.27
331.88	1-	2048	0.23
332.99	1-	737	0.19
346.93		2421	0.30
348.05		1235	0.28
375.00		463137	0.31
375.97	1-	8337	0.36

Compound Spectrum List Report

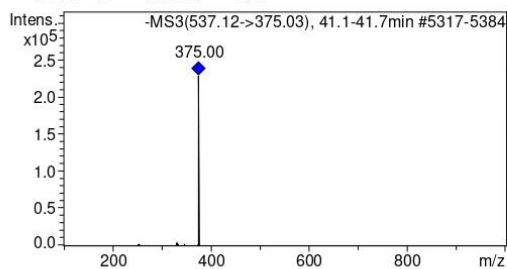
Cmpd 27, AutoMSn(537.12), 41.4 min



m/z	z	I	FWHM
327.04	1-	630473	0.32
328.06	1-	124870	0.32
395.19	1-	137504	0.31
463.20		94589	0.31
483.30		81201	0.29
537.13	1-	2090290	0.33
538.10	1-	691366	0.31
539.13	1-	174595	0.31
567.12	1-	155611	0.27
677.52	1-	182052	0.31



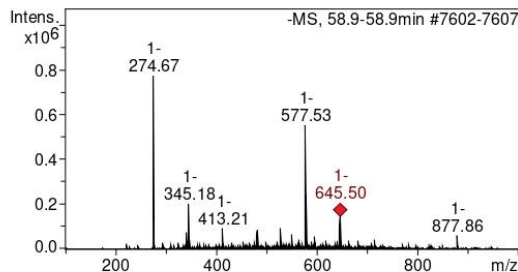
m/z	z	I	FWHM
375.05	1-	675605	0.36
375.98	1-	168904	0.34
377.03	1-	23095	0.36
399.04	1-	54460	0.27
400.98	1-	24129	0.21
417.07	1-	58569	0.29
443.04	1-	552986	0.35
443.99	1-	156375	0.33
445.02	1-	31636	0.34
537.12		43778	0.31



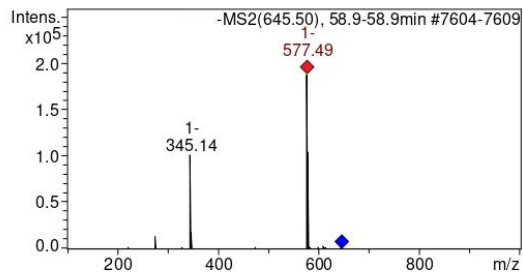
m/z	z	I	FWHM
251.38		802	0.19
253.43		2173	0.29
254.46		1173	0.20
330.92		2852	0.28
331.96	2-	2926	0.29
332.64	2-	870	0.13
346.99		1137	0.16
348.11		877	0.14
375.00		228499	0.33
375.94	1-	5761	0.33

Compound Spectrum List Report

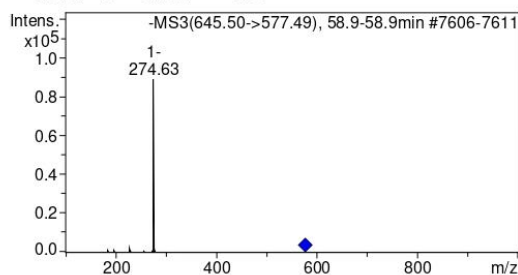
Cmpd 28, AutoMSn(645.50), 58.9 min



m/z	z	I	FWHM
274.67	1-	772657	0.32
275.69	1-	149706	0.34
341.23	1-	74062	0.33
345.18	1-	201525	0.30
413.21	1-	91218	0.34
481.22	1-	84861	0.30
527.50	1-	94479	0.28
577.53	1-	553960	0.39
578.50	1-	244834	0.36
645.51	1-	141371	0.35



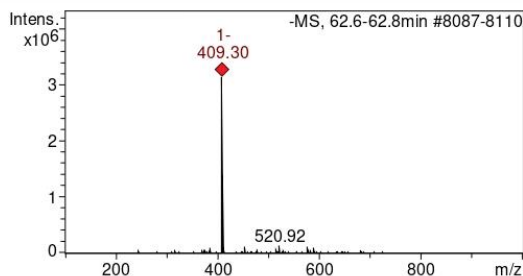
m/z	z	I	FWHM
274.67	1-	13274	0.36
275.64	1-	5948	0.15
345.14	1-	100573	0.28
346.16	1-	17909	0.31
577.51	1-	187523	0.36
578.48	1-	104013	0.26
579.47	1-	5431	0.23
599.25		1299	0.13
609.63		2015	0.13
614.63		1462	0.13



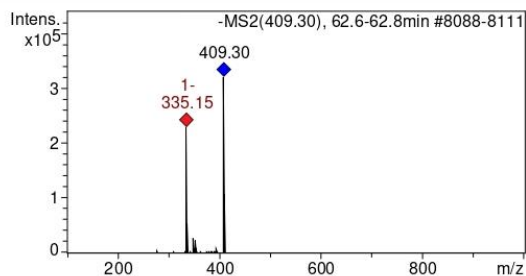
m/z	z	I	FWHM
155.25		374	0.13
184.51		959	0.13
196.88		991	0.13
228.57	1-	2036	0.38
229.63	1-	747	0.13
257.00		552	0.13
272.33		671	0.35
274.63	1-	88991	0.23
275.64	1-	11737	0.36

Compound Spectrum List Report

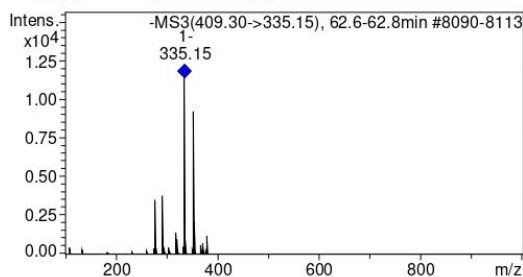
Cmpd 29, AutoMSn(409.30), 62.7 min



m/z	z	I	FWHM
316.24		50800	0.21
384.90		57512	0.28
409.31	1-	3134832	0.34
410.29		1089424	0.31
411.30	1-	179911	0.30
452.90		106382	0.27
515.37		63250	0.26
520.92		135064	0.23
577.31		107290	0.33
588.87		105804	0.24



m/z	z	I	FWHM
335.15	1-	228580	0.32
336.16	1-	53199	0.29
337.19	1-	7502	0.29
349.20	1-	27578	0.28
350.24	1-	6837	0.23
352.16		9045	0.35
353.17	1-	23978	0.30
354.16	1-	5851	0.35
394.25	1-	7749	0.37
409.30		320319	0.32



m/z	z	I	FWHM
276.69	1-	3519	0.33
277.57	1-	1209	0.26
291.34	1-	3761	0.20
318.56	1-	1376	0.27
319.59	1-	947	0.34
335.15	1-	11325	0.36
336.16	1-	854	0.36
353.21	1-	9221	0.33
354.15	1-	1997	0.37
379.17	1-	1160	0.28

ANEXO E – Declaração de publicação de artigo “Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana, synergismo e toxicidade de *Scoparia dulcis linn*”.



Observatorio de La Economía Latinoamericana

DECLARAÇÃO

A Revista Observatorio de La Economía Latinoamericana, ISSN 1696-8352 declara para os devidos fins, que o artigo intitulado **“Caracterização fitoquímica e avaliação da atividade antibacteriana, synergismo e toxicidade de *Scoparia dulcis linn*”** de Joubertth Vieira Ferreira, Carla Milena Amorim Sá, Derek Klinger Buas Pinto, Wylanir Chagas Cardoso Esposito, Priscila Soares Sabbadini, Flávia Maria Mendonça do Amaral, Wellyson da Cunha Araújo Firmo, Denise Fernandes Coutinho, foi publicado no v. 22, n .5, p. 01-20.

A revista é on-line, e os artigos podem ser encontrados ao acessar o link:

<https://ojs.observatoriolatinoamericano.com/ojs/index.php/olel/issue/view/38>

DOI: <https://doi.org/10.55905/oelv22n5-151>

Por ser a expressão da verdade, firmamos a presente declaração.

São José dos Pinhais, 23 de Maio de 2024.

Equipe editorial