



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

ISACK FERNANDES PINTO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, CITOTÓXICA E
GENOTÓXICA DA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium occidentale* Linn)**

CUITÉ-PB

2015

ISACK FERNANDES PINTO

**AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, CITOTÓXICA E
GENOTÓXICA DA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium occidentale* Linn)**

Monografia apresentada à Universidade Federal de
Campina Grande no Centro de Educação e Saúde,
como requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Toshiyuki Nagashima Junior

CUITÉ-PB

2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

P659a Pinto, Isack Fernandes.

Avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica e genotóxica da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn). / Isack Fernandes Pinto. – Cuité: CES, 2015.

61 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2015.

Orientador: Dr. Toshiyuki Nagashima Júnior.

1. Goma do cajueiro. 2. Atividade antimicrobiana. 3. Toxicidade. I. Título.

CDU 615

ISACK FERNANDES PINTO

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANA, CITOTÓXICA E
GENOTÓXICA GOMA DO CAJUEIRO (*Anacardium occidentale* Linn).

Monografia apresentada à Universidade Federal de Campina Grande no Centro de Educação e Saúde, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Toshiyuki Nagashima Junior

Aprovado em 03/02/2015

BANCA AVALIADORA

Prof. Dr. Toshiyuki Nagashima Junior - Orientador
(UFCG-CES)

Profª Drª Júlia Beatriz Pereira de Souza
(UFCG-CES)

Msc. Givanilson Brito de Oliveira
(UFCG-CES)

Todo esse trabalho, bem como tudo o que conquistei e
vier a conquistar, será sempre dedicado àquela que
sonhou com tudo isso antes mesmo que eu e que lutou
para realizar esse sonho, à minha amada mãe,
Maria do Socorro Fernandes Pinto.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela graça das graças que é o dom da Vida e por diariamente me proporcionar tudo aquilo que preciso mesmo eu não sendo merecedor de tantas bênçãos;

Agradeço à minha mãe, Maria do Socorro Fernandes Pinto, que além de me incentivar a seguir em frente, lutou árduas batalhas sem medir esforços para que eu seguisse meus sonhos sem precisar desistir. Agradeço ao meu pai, Damião Jacó Pinto, por sua presença paterna em minha vida e por todo apoio ao longo desses anos, sem jamais desistir de mim;

Às minhas irmãs Gerliane e Jayane por serem sempre o amparo fraterno quando precisei;

Aos meus avós, Ana, Raimundo e Tiquinha por que tenho tanto amor, que os chamo de “mães” e “pai”;

Aos meus tios Lucinha, Nego, Nininha, Diana, Zelma, Doda, Gil e Roberto que sempre quando precisei pude contar com sua confiança e apoio;

A Alcione e Chico que mesmo não sendo parentes sanguíneos, foram tios de estimável carinho e afeto;

Aos meus primos Ana Flávia, Vitória, Ayanne, Alane, Ayrla., Isabele, Guilherme, Amanda, Amira, Henrique pelo enorme amor fraternal e me darem alegria em suas simples companhia;

A minha prima Isadora, que foi uma pequena guerreira e grande vencedora, sendo um exemplo de força para toda a família;

Ao meu afilhado Arthur, pois me ensinou a cuidar e ser responsável por alguém e que com seu sorriso me dar forças para travar as batalhas do dia-à-dia;

Ao Dr. Toshiyuki Nagashima Junior pela orientação dada ao longo desse trabalho;

A Dra. Julia Beatriz Prereira de Souza e ao Msc. Givanilson Brito de Oliveira por terem me ajudado a realizar as pesquisas aqui mostradas;

A Patrícia e Fernando por serem aqueles amigos que são mais íntimos que irmãos com quem pude compartilhar a convivência durante esses cinco anos;

A Emanuel, Sandro, Marcinha, Bia, Edwess, Aline, Geordanea, Josinaldo, Maria, Josevandro, Djair por se tornarem tão bons amigos que os levarei em meu coração por todas as estradas em que a vida me levar;

A Osmael pelo grande apoio, parceria e companheirismo em momentos de alegria e de tristeza;

A Diégina, Jéssica, Isane que além de colegas de curso e de profissão, foram amigos e pilares todos os dias da graduação;

A Mirele, Paula e Cícero pela amizade que ultrapassou o ensino médio e perdurou pelo o ensino superior e nos acompanhará enquanto houver a saudade;

À família do Grupo de Oração Adorai por ser minha família longe de casa onde encontrei amigos e irmãos, onde recarrego minhas forças e meu espírito, pois “uma vez Adorai, sempre Adorai”;

Aos companheiros da Residência Universitária que ao longo desses cinco dividiram comigo os altos e baixos de ser residente;

A todos meus professores, que desde a pré-escola me ensinaram a ler, a escrever, interpretar a história da vida e compreender a ciência do mundo me ajudando a chegar onde cheguei... a todos vocês, meus sinceros agradecimentos.

“Uma mente necessita de livros da mesma forma que
uma espada necessita de uma pedra de amolar se
quisermos que se mantenha afiada.”

George R. R. Martin

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> Linn).....	19
Figura 2	Unidades monossacarídicas constituintes da goma do cajueiro (GC).....	23
Figura 3	Caule do cajueiro com intensa exsudação.....	27
Figura 4	Mapa da Paraíba com a localização do município de Cuité-PB.....	28
Figura 5	Resina do cajueiro triturada.....	29
Figura 6	Goma isolada e seca em dessecador.....	29
Figura 7	Representação esquemática do método de isolamento da goma do cajueiro.....	30
Figura 8	Representação esquemática da primeira e segunda etapa de purificação da goma.....	31
Figura 9	Representação esquemática da terceira etapa de purificação da goma.....	32
Figura 10	Representação esquemática do procedimento de padronização do inóculo.....	34
Figura 11	Representação esquemática do método de diluição em caldo.....	34
Figura 12	Representação esquemática da preparação do meio para o método de difusão em ágar.....	36
Figura 13	Germinação dos bulbos de cebolas (<i>Allium cepa</i>).....	37
Figura 14	Crescimento das raízes da cebola.....	38
Figura 15	Goma do cajueiro purificada.....	40
Figura 16	Tubos usados no teste de macrodiluição em caldo.....	42
Figura 17	Perfil da inibição do crescimento de diferentes microrganismos pela goma purificada do cajueiro.....	44
Figura 18	Perfil da inibição do crescimento de diferentes microrganismos pela resina bruta do cajueiro.....	46
Figura 19	Aberrações Cromossômicas encontradas nas células de <i>Allium cepa</i> após exposição a diferentes concentrações da goma do cajueiro.....	50
Figura 20	Gráficos de comparação dos valores de IM, ACM, ACA e tamanho das raízes de <i>Allium cepa</i> tratados com diferentes soluções da goma do cajueiro.....	51

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1	Vantagens e desvantagens do uso de polímeros e gomas naturais.....	21
Tabela 1	Comparação entre a composição da goma arábica (GA) e da goma do cajueiro (GC) encontradas por diferentes estudos, apresentadas em porcentagem (%)......	23
Tabela 2	Preparação dos tubos do ensaio para o teste de macrodiluição em caldo.....	35
Tabela 3	Resultado do método de diluição em caldo.....	42
Tabela 4	Tamanhos do halo de inibição (mm) provocados pela goma purificada do cajueiro nos cultivos de diferentes microrganismos (Média±Desvio Padrão)......	43
Tabela 5	Tamanhos do halo de inibição (mm) provocados pela resina bruta do cajueiro nos cultivos de diferentes microrganismos.....	45
Tabela 6	Frequências das fases mitóticas encontradas nas células de <i>Allium cepa</i> tratadas com a goma do cajueiro (Média±Desvio Padrão)......	47
Tabela 7	Valores dos IM e AC Metafásicas e Anafásicas (ACM e ACA) obtidos pelo teste do <i>Allium cepa</i> para amostras de diferentes concentrações da GC (Média±Desvio Padrão)......	48
Tabela 8	Comprimento (cm) das raízes de <i>Allium cepa</i> tratadas com a goma do cajueiro.....	49

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Aberrações Cromossômicas
ACA	Aberrações Cromossômicas Anafásicas
ACM	Aberrações Cromossômicas Metafásicas
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CIM	Concentração Inibitória Mínima
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
GA	Goma Arábica
GC	Goma do Cajueiro
IM	Índice Mitótico
MN	Micronúcleo
nm	Nanômetro
pH	Potencial Hidrogeniônico
rpm	Rotações por minuto

RESUMO

A goma do cajueiro (GC) é obtida através do exsudato do tronco da espécie de *Anacardium occidentale* Linn. A mesma apresenta grande possibilidade de aplicações nas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e têxtil, fazendo com que ela seja bastante apontada como grande candidata a substituição da goma arábica (GA) na formulação de formas farmacêuticas sólidas, principalmente por sua semelhança estrutural e química com esta, além de sua alta disponibilidade na região Nordeste do território brasileiro. O objetivo desse trabalho foi analisar as atividades antimicrobiana, citotóxica e genotóxica da goma do cajueiro com o intuito de se obter informações quanto ao seu potencial de utilização como matéria-prima na produção de medicamentos. A goma do cajueiro foi extraída por meio de uma adaptação do método descrito por Rinaudo e Milas (1991), efetuado através de trituração da resina, dissolução em água com ajuste de pH e à temperatura ambiente, filtração e precipitação com etanol. A atividade antimicrobiana da goma foi avaliada pelo método de macrodiluição em caldo, partindo da concentração de 100 mg/mL até 0,39 mg/mL, afim de se obter uma Concentração Inibitória Mínima (CIM). O método de difusão em ágar foi utilizado para comparar a capacidade da goma purificada com a da resina bruta de inibir o crescimento de quatro microrganismos, *A. niger*, *C. albicans*, *S. aureus* e *E. coli*, em quatro concentrações diferentes (150 mg/mL, 75 mg/mL, 37,5 mg/mL e 18,57 mg/mL). O teste do *Allium cepa* foi utilizado para determinar o potencial citotóxico, genotóxico e tóxico da goma em quatro concentrações (C1 = 0,56 mg/mL, C2 = 0,11 mg/mL, C3 = 1,66 mg/mL e C4 = 2,22 mg/mL), por meio das análises microscópica, que avalia o Índice Mitótico (IM) e Aberrações Cromossômicas (AC), e macroscópica, que avalia a estrutura e crescimento das raízes. O método de macrodiluição em caldo se mostrou ineficaz para o fim proposto, uma vez que a própria goma turvou o meio impossibilitando observar se houve inibição do crescimento microbiano. Na técnica de difusão em ágar a goma purificada inibiu o crescimento do fungo *C. albicans* com CIM de 150 mg/mL, enquanto a resina bruta não mostrou atividade contra nenhum dos microrganismos testados, indicando pouca interferência do método de purificação, apenas melhorando a capacidade de inibir o crescimento de um dos microrganismos. Quanto ao potencial citotóxico e genotóxico, apresentou parâmetros de IM, AC e tamanho das raízes significativamente diferente do controle negativo - água destilada ($p < 0,05$ no teste de Mann-Whitney), indicando que a concentração citada desencadeou alterações na estrutura dos cromossomos das células, sugerindo que o uso da goma seja segura em concentrações inferiores a 2,22 mg/mL, valores esses coerentes com a análise

macroscópica, onde a amostra C4 também mostrou toxicidade, porém, em concentrações usuais (0,0056 mg/mL), a goma do cajueiro se apresentou segura para o uso. Esse resultados confirmam o potencial da goma do cajueiro como grande candidata a substituição da goma arábica na produção de formas farmacêuticas sólidas, minimizando custos para indústria, agregando valor a cajucultura e desenvolvendo a região Nordeste, grande produtora de caju.

Palavras-chave: Goma do cajueiro. Atividade antimicrobiana. Toxicidade.

ABSTRACT

The cashew gum (CG) is obtained by stem exudate of stem from the species *Anacardium occidentale* Linn. The same has great potential for applications in the pharmaceutical, cosmetic, food and textile industries, causing it to be fairly identified as major contender to replace the arabic gum (AG) in the formulation of solid dosage forms, mainly because of its structural similarity and chemistry with this, in addition to its high availability in the Northeast region of Brazil. The aim of this study was to analyze the antimicrobial activity, cytotoxic and genotoxic of cashew gum in order to obtain information on their potential for use as raw material in the production of medicines. The cashew gum was extracted by means of an adaptation of the method described by Rinaudo and Milas (1991), made by grinding the resin, dissolution in water with pH adjustment and ambient temperature, filtration and precipitation with ethanol. The antimicrobial activity of the gum was evaluated by broth macrodilution method, the starting concentration of 100 mg / ml to 0.39 mg / ml, in order to obtain a minimum inhibitory concentration (MIC). The agar diffusion method was used to compare the ability of gum purified with the crude resin inhibit the growth of four microorganisms, *A. niger*, *C. albicans*, *S. aureus* and *E. coli* at four different concentrations (150 mg/mL, 75 mg/mL, 37.5 mg/mL and 18.57 mg/mL). The *Allium cepa* test was used to determine the potential cytotoxic, genotoxic and toxic gum at four concentrations (C1 = 0.56 mg/mL, C2 = 0.11 mg/ml, C3 = 1.66 mg/ml and C4 = 2.22 mg/ml) by means of microscopic analysis, which assesses the mitotic index (MI) and Chromosome Aberrations (CA) and macroscopic structure and assessing the growth of roots. The macrodilution broth method was ineffective for its intended purpose, as the gum became turbid medium itself impossible to observe whether there was inhibition of microbial growth. In the agar diffusion technique, purified gum inhibited the growth of the fungus *C. albicans* MIC of 150 mg/mL, and the crude resin showed no activity against any of the tested microorganisms, indicating little influence of the purification method only improves the ability inhibiting the growth of microorganisms. As to the cytotoxic as genotoxic potential presented IM parameters, AC and size of the roots significantly different from the negative control - distilled water ($p < 0.05$ in the Mann-Whitney test) indicating that the concentration of said triggered changes in chromosome structure cells, suggesting that the use of gum is safe at concentrations below 2.22 mg/mL, these values are consistent with the macroscopic, where C4 sample also showed toxicity, but in usual concentrations (0.0056 mg/ml), cashew gum appeared safe to use. This results confirm the potential of cashew gum comogrande candidate for substitution of gum

arabic in the production of solid dosage forms, minimizing costs for industry, adding value to cashew cultivation and developing the Northeast, a major producer of cashew.

Key words: Cashew gum. Antimicrobial activity. Toxicity.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	18
2.1. OBJETIVO GERAL	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3. REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1. <i>Anacardium occidentale</i> Linn	19
3.2. POLÍMEROS E GOMAS NATURAIS	20
3.2.1. Goma do cajueiro (GC)	21
3.3. IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	24
3.4. <i>Allium cepa</i> TESTE NA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO, GENOTÓXICO E TÓXICO	25
4. METODOLOGIA	27
4.1. OBTENÇÃO DO EXSUDATO DO CAJUEIRO	27
4.2. EXTRAÇÃO DA GOMA	28
4.3. PURIFICAÇÃO DA GOMA EXTRAÍDA	30
4.4. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	33
4.4.1. Microrganismos testados	33
4.4.2. Método de macrodiluição em caldo	33
4.4.3. Método de difusão em ágar	35
4.4.4. Determinação da atividade antimicrobiana da resina bruta	36
4.5. TESTE DE GENOTOXICIDADE <i>Allium cepa</i>	37
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. EXTRAÇÃO DA GOMA DO CAJUEIRO	40
5.2. DETERMINAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS	41
5.2.1. Método de macrodiluição em caldo	41
5.2.2. Determinação da atividade antimicrobiana da goma purificada pelo método de difusão em ágar	43
5.2.3. Determinação da atividade antimicrobiana da resina bruta pelo método de difusão em ágar	45
5.3. DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL GENOTOXICO UTILIZANDO O <i>Allium cepa</i> COMO ORGANISMO TESTE	46

6.	CONCLUSÕES	52
7.	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	53

1. INTRODUÇÃO

Anacardium occidentale Linn, da família Anacardiaceae, conhecida popularmente como cajueiro, é uma planta nativa do Brasil e característica dos campos e das regiões costeiras do Norte e Nordeste. Foi introduzida na África e Índia pelos portugueses no século XVI e hoje está disseminada por todas as regiões tropicais do globo (PIO CORRÊA, 1926 *apud* CHAVES et al., 2010). No Nordeste brasileiro é bastante utilizada com planta medicinal, tanto na forma *in natura* como em outros tipos de preparações (AGRA et al., 2008; DANTAS, 2007). Seus principais produtos comerciais são a castanha e a poupa, mas existe potencial de exploração para outras partes e subprodutos, como a goma do exsudato do caule (PAULA; HEATLEY; BUDD, 1998).

As gomas, de uma forma geral, podem ser definidas como substâncias poliméricas que, por sua vez, quando em contato com solventes ou agentes de intumescimento são capazes de formar dispersões, soluções altamente viscosas e até mesmo géis. Tais substâncias podem ser classificadas em naturais, obtidas de sementes, algas, fermentação microbiológica ou através de exsudatos de árvores, e modificadas, derivadas de polissacarídeos insolúveis (RODRIGUES; PAULA; COSTA, 1993).

De acordo com BeMiller e Whistler (1993), gomas são substâncias incolores, inodoras, insípidas, não tóxicas, essencialmente não calóricas e a maioria delas, apesar de sofrer hidrólise ácida e enzimática, passa pelo trato gastrointestinal com pouca ou nenhuma modificação. Em virtude desta característica, adicionada a outras mais específicas, as gomas são utilizadas para diversos fins na área tecnológica, incluindo a área farmacêutica.

A goma do cajueiro (GC) tem sido utilizada como um substituto para goma arábica em aplicações farmacêuticas (PAULA; HEATLEY; BUDD, 1998). Sabendo disso, Mothé e Rao (2000) realizaram um estudo onde determinaram que, em termos de comportamento térmico, a goma de caju pode ser adequada como uma substituta da goma arábica. Esta goma, além da semelhança estrutural (ramificações) e química (açúcares componentes) com a goma arábica (GA), tem um importante diferencial: sua alta disponibilidade na região Nordeste do território brasileiro, podendo gerar lucros no período da entressafra do caju (ANDRADE et al., 2013).

A utilização da goma do cajueiro na indústria farmacêutica apresenta diversos benefícios, destaca-se a redução de custos na produção de medicamentos, decorrente do seu enorme potencial como substituinte da goma arábica, componente que apresenta elevado custo para as indústrias, tanto pelo elevado preço comercial, como pelos gastos com a

importação, uma vez que, sua produção e comercialização se concentram na África (ANDRADE et al., 2013).

Além disso, outra grande importância para uso desse polímero é a possibilidade de desenvolvimento da comunidade local, uma vez que se trata de um produto inovador para o mercado farmacêutico, devido ao seu potencial de uso como matéria-prima na produção de medicamentos. Sendo assim, a exploração desse produto aumentaria a renda dos pequenos agricultores implantados no Curimataú paraibano, bem como de toda região litorânea do Nordeste brasileiro, região essa rica em diversidade ambiental, com abundante cultivo do cajueiro, porém desfavorecida socioeconomicamente.

Logo, a avaliação das atividades antibacteriana, antifúngica e genotóxica da goma do cajueiro são importantes, uma vez que se deseja usá-la como excipiente de uma forma farmacêutica sólida, sendo necessários esclarecimentos quanto a sua capacidade de contribuir ao sistema conservante do produto acabado, a fim de proteger tanto o medicamento, como o consumidor, assim como, também é necessário assegurar que seja incapaz de produzir toxicidade em doses usuais.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Analisar as atividades antimicrobiana, citotóxica, genotóxica e tóxica do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) com o intuito de se obter informações quanto ao seu potencial de utilização como matéria-prima na produção de medicamentos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair e purificar a goma de cajueiro por meio de uma adaptação do método de Rinaudo e Milas (1991);
- Realizar ensaios antimicrobianos com a goma por meio do método de macrodiluição em caldo, a fim de definir seu potencial antibacteriano e antifúngico;
- Comparar as atividades antimicrobianas da goma purificada com as da resina bruta, utilizando o método de difusão em ágar;
- Testar a atividade citotóxica, genotóxica e tóxica da goma através do método do *Allium cepa* (Fiskesjo, 1985).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. *Anacardium occidentale* Linn

A planta *Anacardium occidentale* Linn, pertencente à família Anacardiaceae, é conhecida popularmente como cajueiro. É originária do Brasil, nativa da região Nordeste (SILVA et al., 2007).

Apresenta-se como uma árvore verde, normalmente com seis a doze metros de altura, podendo atingir até 15 metros em solos ricos, muitas vezes ramificadas a partir da base do tronco (Figura 1). Folhas alternas, verdes, coriáceas, com quatro a quinze centímetros de largura e seis a vinte e quatro centímetros de comprimento, e brilhante. Sua floração ocorre normalmente no início da temporada da seca. Inflorescência dispostas em panícula terminais de quatorze a vinte e cinco centímetros, tendo flores bissexuais e masculinas, sendo a maioria masculina, de cor vermelho púrpura e perfumadas. Apresenta um fruto reniforme do tipo aquênio, vulgarmente conhecido como castanha, tendo em seu interior uma amêndoa oleaginosa comestível. O caju é o pedúnculo floral que se desenvolveu formando um pseudofruto carnosos (DANIDA FOREST SEED CENTRE, 2000; LORENZI; MATOS, 2002).



Figura 1 - Cajueiro (*Anacardium occidentale* Linn).

Fonte - Arquivo do autor, 2015.

É uma planta bastante usada na medicina popular, apresentando diversas atividades farmacológicas comprovadas na literatura científica, destacando-se entre elas: atividade antiinflamatória (OLAGIDE; ADEROGBA; FEBICH, 2013; VANDERLIDE et al., 2009); antidiabética (KAMTCHOUING et al., 1999); cicatrizante (VITORINO FILHO, 2011); potencial protetor contra agentes mutagênicos (BARCELOS et al., 2007); e atividade antibacteriana dos extratos hidroalcoólicos das folhas e cascas do caule (AKINPELU, 2001; MELO et al., 2006; SILVA et al., 2007).

3.2.POLÍMEROS E GOMAS NATURAIS

Polímeros naturais são aqueles formados durante o ciclo de crescimento de organismos vivos saudáveis, podendo ser aumentado em organismos patológicos. Na sua síntese, geralmente estão envolvidas reações catalisadas por enzimas e reações de crescimento de cadeia a partir de monômeros ativados, que são formados dentro das células por processos metabólicos complexos (FRANCHETTI; MARCONATO, 2006).

As gomas naturais são exsudatos hidrocoloides vegetais que consistem em múltiplas unidades de açúcar (monômeros) ligadas em conjunto para criar moléculas grandes (polissacarídeos) de forma heterogênea. Possuem aspecto translúcido e amorfo, frequentemente, produzidas pelas plantas superiores como mecanismos de proteção a uma agressão física ou microbiana ao seu córtex, servindo para vedar o corte e evitar desidratação. São formadas à base de ácidos urônicos (glicurônico e galacturônio) e, em sua maioria, estão associadas com proteínas (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011; RANA et al., 2011; SHUKLA; TIWARI, 2012; TORQUATO et al., 2004).

De um ponto de vista farmacêutico, polímeros e gomas naturais possuem muitas características favoráveis, tais como a baixa toxicidade, biocompatibilidade, estabilidade, baixo custo, a natureza hidrófila e a disponibilidade de locais reativos para a modificação química (MIZRAHY; PEE, 2012; DEOGADE, DESHMUKH; SAKARKAR, 2012).

Há muitos polímeros que são empregados como excipientes em preparações convencionais de medicamentos e cosméticos. Nos medicamentos sólidos eles exercem funções variadas, como: diluentes, aglutinantes, lubrificantes, tensoativos e desintegrantes (FIGUEIREDO 2012; PESSANHA et al., 2012).

O Quadro 1 apresenta as principais vantagens e desvantagens do uso de polímeros e gomas naturais na indústria farmacêutica.

QUADRO 01 - Vantagens e desvantagens do uso de polímeros e gomas naturais.

VANTAGENS	DESVANTAGENS
✓ Biodegradável; ✓ Biocompatível e atóxico; ✓ Baixo custo; ✓ Processamento a favor do meio ambiente; ✓ A disponibilidade local (especialmente em países em desenvolvimento); ✓ Melhor tolerância do paciente, bem como a aceitação pública; ✓ Fontes comestíveis.	✓ Contaminação microbiana; ✓ Variação entre lotes; ✓ Taxa descontrolada de hidratação; ✓ Redução da viscosidade em armazenamento.

Fonte - Adaptado de Deogade, Deshmukh e Sakarkar, 2012.

3.2.1. Goma do cajueiro (GC)

A goma do cajueiro é obtida através do exsudato do tronco da espécie de *Anacardium occidentale* Linn. É produzida por células epiteliais que fazem fronteira com os ductos da goma. Transportadores de membrana passam esse material através das paredes das células para os ductos que transportam o conteúdo gomoso fluido das células lisadas para o meio externo através de um corte aberto e secam devido à evaporação (MARQUES; XAVIER-FILHO, 1991).

A hidrólise desta goma produz altos teores de galactose e outros constituintes similarmente distribuídos tais como: glicose, ramnose, manose, arabinose e ácido glicurônico, entre outros constituintes (ANDERSON; BEL; MILLAR, 1974; MENESTRINA et al., 1998; PAULA; RODRIGUES, 1995.).

A GC apresenta grandes possibilidades de aplicações nas indústrias farmacêutica, cosmética, alimentícia e têxtil (PRAJAPATI et al., 2013). Dentre seu enorme potencial na indústria farmacêutica alguns exemplos de seu uso podem ser citados, como por exemplo: junto com o carbopol, formou um gel tópico de anestésico com sustentada ação de permeação na pele (DAS; NAYAK; NANDA, 2013); agente ligante para a formulação de comprimidos

de paracetamol (GOWTHAMARAJAN et al., 2011), formador de biofilmes com potencial para biossensor eletroquímico de neurotransmissores e suporte para imobilização de proteínas (ARAÚJO et al., 2012; MACIEL et al., 2007); possui, também, propriedades emulsificantes, adesivas e estabilizantes (MOTHÉ; RAO, 2000), dentre outros, cabendo grande destaque para seu uso como agente encapsulador de fármacos, usados em mecanismos de liberação controlada (MOURA, 2009; OLIVEIRA; PAULA, H.; PAULA, R., 2014; SILVA et al., 2006; SILVA, 2013).

A grande utilidade da GC faz com que ela seja bastante apontada como grande candidato a substituição da goma arábica (GA) na formulação de formas farmacêuticas sólidas (MOTHÉ; RAO, 1999).

A goma arábica é o exsudato gomoso dessecado dos troncos e dos ramos da *Acacia senegal* ou de outras espécies africanas de Acácia, composta principalmente de polissacarídeos e moléculas de alto peso molecular (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011). É bastante utilizada na indústria de alimentos e cosméticos, bem como na indústria farmacêutica, como matéria-prima de alta qualidade (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2011; PRAJAPATI et al., 2013).

De acordo com a Tabela 1, onde é feita uma comparação entre a composição da goma do cajueiro e a goma arábica em diferentes estudos, é possível observar que não há grande variação entre os que comparam a GA. Em relação à composição da GC nos diferentes trabalhos analisados, pode ser notada uma maior quantidade de galactose nas amostras do Brasil e a presença de xilose em todas as amostras da Índia. Em relação a comparação das duas gomas, nota-se uma maior concentração de galactose e menor de ramnose na GC além da presença de glicose, manose e xilose na GC, o que não é observado na GA.

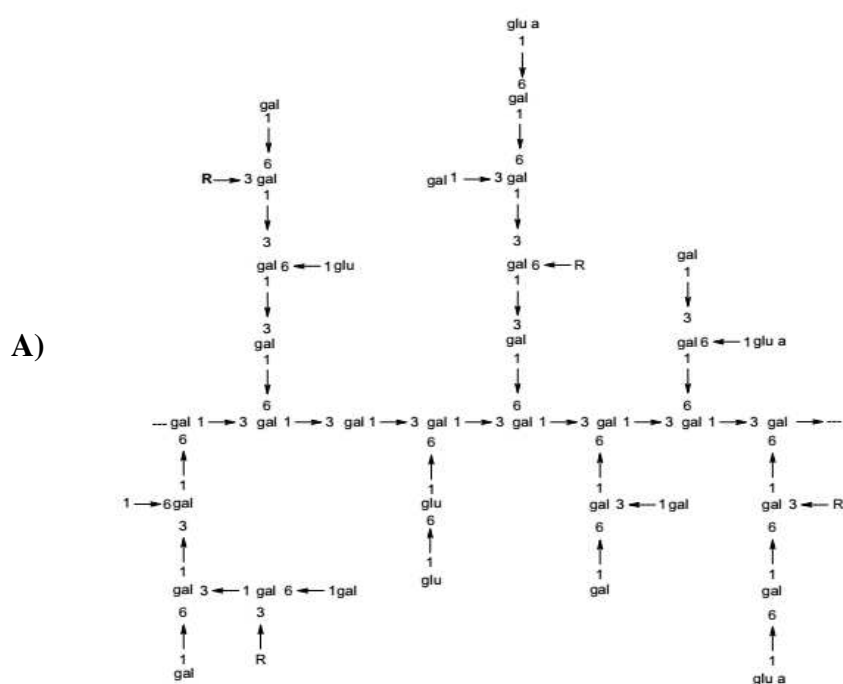
Mothé e Rao (2000) compararam o comportamento reológico da GC e da GA e observaram que ambas apresentaram comportamento de fluxo não-newtoniano intensamente semelhantes, bem como não apresentaram alteração nas viscosidades das soluções de goma após um tratamento térmico suave, além disso, perceberam que misturas de soluções de GC e GA de igual viscosidade não mostrou grandes interações, evidenciando a capacidade de uso concomitante das duas gomas.

TABELA 01 - Comparação entre a composição da goma arábica (GA) e da goma do cajueiro (GC) encontradas por diferentes estudos, apresentadas em porcentagem (%).

	GOMA ARÁBICA		GOMA DO CAJUEIRO					
Autor (Ano)	Randal (1989)	Osman (1993)	Anderson (1974)		Paula e Rodrigues (1995)		Paula e Budd (1998)	
Origem	SUDÃO	SUDÃO	INDIAN	PAPUA	INDIA	BRASIL	INDIA	BRASIL
Galactose	36.2	35	61	63	61	73	61	72
Arabinose	30.5	27	14	15	14	5	14	4,6
Glicose			8	9	8	11	8	14
Raminose	13.0	14	7	7	7	4	7	3,2
Manose			2	1	2	1	2	-
Xilose			2	-	2	-	2	-
Glicuronideo ácido	19.5	21	4,3	4,5	6,2	6,3	4,3	4,5

Fonte - Adaptado de Anderson et al., 1974; Osman et al., 1993; Paula e Rodrigues, 1995; Paula, Budd, 1998 e Randal et al., 1989.

Ainda quanto aos resultados da composição da GC, indicaram que a goma do nordeste do Brasil é basicamente constituída de uma cadeia principal de galactose ($1 \rightarrow 3$), com ramificação de galactose ($1 \rightarrow 6$), tendo unidades de ramnose, ácido glucurônico e arabinose como grupos terminais (Figura 2) (MOURA, 2009)



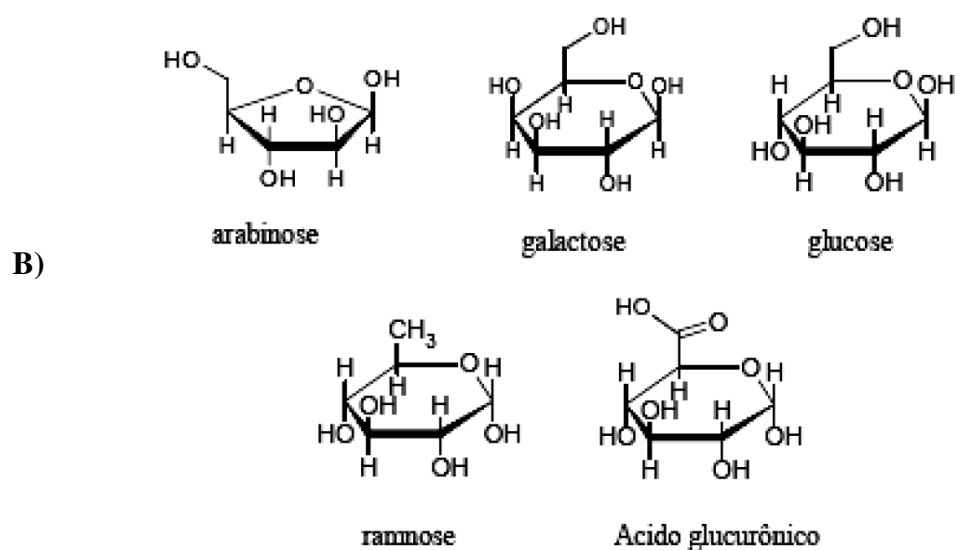


Figura 2 - Unidades monossacarídicas constituintes da goma do cajueiro (GC).

A) Cadeia principal e ramificações de galactose da estrutura da goma do cajueiro; B) Estruturas moleculares das unidades monossacarídicas constituintes da goma.

Fonte - Cunha, et al. (2007).

Além de tudo isso, a goma de cajueiro apresenta uma grande possibilidade de produção comercial. Segundo o IBGE (2013) a área cultivada com cajueiro em 2013 foi de 705.175 hectares. A produção média de goma/planta/ano é de 700 g. Tomando em consideração que o adensamento médio é de 100 plantas/hectare, a possibilidade de produção da goma/ano seria de cerca de 50.000 toneladas, quantidade muito superior à importada de goma arábica, por exemplo, em 2008 (6700 toneladas). Seria uma forma de agregar valor à cajucultura, desde que existisse mercado para a goma (CUNHA et al., 2009)

3.3. IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Um fator importante para a estabilidade de uma forma farmacêutica é a eficácia de seus sistemas conservantes. Os constituintes da formulação, dentre outras características, devem promover proteção contra contaminação microbiana. Para isso é necessário garantir

que o sistema conservante seja eficiente, lançando mão de avaliação *in vitro* do potencial antimicrobiano dos componentes (PINTO, 2010).

A atividade antimicrobiana de extratos vegetais é avaliada através da determinação de uma pequena quantidade da substância necessária para inibir o crescimento do microrganismo-teste, valor conhecido como Concentração Inibitória Mínima (CIM). Diversos métodos laboratoriais podem ser empregados para predizer a sensibilidade *in vitro* de microrganismos aos agentes antimicrobianos. Os métodos mais usuais são o de difusão em disco para testar a sensibilidade de patógenos comuns de crescimento rápido e certas bactérias fastidiosas frente a antimicrobianos e a técnica do poço, que também é usado para analisar atividade antimicrobiana de medicamentos ou mesmo de extratos naturais. Um aspecto bastante relevante na determinação da CIM de extratos vegetais é a preocupação em relação aos aspectos toxicológicos, microbiológicos e legais pertinentes aos compostos naturais ou suas combinações (MAIA-ARAÚJO et al., 2011; OSTROSKY et al., 2008).

Campos et al. (2012) realizaram um estudo onde analisou-se as atividades antimicrobianas da goma bruta e purificada do cajueiro contra o crescimento de diversos microorganismos pelo método de microdiluição em caldo, identificando as Concentrações Inibitórias Mínima (CIM) e Concentrações Bactericidas Mínima (CBM). Neste estudo, eles observaram que a goma purificada mostrou atividade contra algumas espécies de bactérias, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Efeitos adversos em relação à contaminação microbiana em produtos farmacêuticos podem ser citados como descoloração, produção de gases e odores, entre diversas outras instabilidades, realçando a importância de se controlar o crescimento microbiano para proteger tanto o consumidor como o próprio produto (PINTO, 2010).

3.4. *Allium cepa* TESTE NA AVALIAÇÃO DO POTENCIAL CITOTÓXICO, GENOTÓXICO E TÓXICO

A citotoxicidade se traduz pela desorganização e pelas alterações celulares quando as células são expostas a agentes externo. Genotoxicidade é definido como o potencial de algumas substâncias de induzir alterações no material genético de organismos a ela expostos. Os estudos de cito e genotoxicidade mais utilizado para descrever a possibilidade de toxicidade de determinadas substâncias incluem o Ensaio Cometa (EC), teste de Micronúcleos (MN) e Aberrações Cromossômicas (AC). O EC é um método versátil, simples e sensível

para o estudo da toxicidade de uma ampla gama de compostos. O teste do MN é utilizado para analisar a disfunção de aparelho mitótico e danos nos cromossomos. Os testes de AC servem para diagnosticar agentes que podem causar aberrações no número ou estrutura dos cromossomos, quebras cromatídicas e presença de cromossomos anormais (STREISSLE, 1981; MAGDOLENOVA et al., 2013).

Allium cepa L. (Alliaceae), conhecida comumente como cebola, é uma planta bulbosa com hastes eretas, côncavas e dilatadas na base, com folhas verdes, compridas e fistulosas. As flores são esbranquiçadas, esverdeadas ou róseas, agrupadas em umbelas arredondadas dispostas na extremidade da haste, apresentando de duas a quatro brácteas curtas. O fruto é uma cápsula pequena (ANVISA, 2010).

O uso de *Allium cepa* como um sistema de ensaio foi introduzido por Levan (1938), quando os efeitos da colchicina foram investigados (FISKESJO, 1985). Desde então, o teste tem sido frequentemente utilizado para a avaliação da genotoxicidade de muitos compostos, como na análise toxicológica de efluentes de rios contaminados (OLIVEIRA, 2007; LORENTZ, 2008; IWALOKUN et al., 2011; MACHADO, 2013).

A real importância desse sistema-teste para avaliação de genotoxicidade, foi mostrado por Fiskesjo (1985) com a utilização do benzo(a)pireno. Conforme o autor, as células do *Allium cepa* apresentam um sistema de enzimas oxidases capazes de metabolizar hidrocarbonetos policíclicos e, embora outros sistemas se mostrem mais sensíveis, os resultados gerados pelo teste devem ser considerados como alerta, advertindo para a possibilidade de ação semelhante em outros organismos, principalmente em células eucariontes, com 85% eficiência (MACHADO, 2013).

Segundo Monarca et al (2000), com esse teste é possível obter informações sobre a toxicidade através tanto de avaliação macro como microscópica. No primeiro caso pode-se observar a presença de tumores, o crescimento das raízes e possíveis raízes deformadas. No segundo, avalia-se a taxa de divisão celular por meio do Índice Mitótico (IM), observam-se alterações cromossômicas, que ocorrem principalmente na metáfase e anáfase e formação de micronúcleos, como indicadores de danos no DNA.

O teste de *Allium cepa* combina três alvos de teste: toxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade. A toxicidade é facilmente medida por observação da inibição do crescimento e, uma vez que a genotoxicidade e mutagenicidade são correlacionadas com a taxa de quebra de cromossomos, o risco de eventos mutagênicos pode ser avaliado pela frequência dos intervalos de cromossomos induzidas por vários tratamentos. Células da ponta da raiz de *Allium cepa* constituem um excelente sistema para tais testes citológicos (FISKESJO, 1985).

4. METODOLOGIA

4.1. OBTENÇÃO DO EXSUDATO DO CAJUEIRO

A resina foi obtida através da exsudação natural do caule do cajueiro - *Anacardium occidentale* Linn (Figura 3).



Figura 3 - Caule do cajueiro com intensa exsudação.

Fonte – Arquivos do autor, 2015.

A amostra foi coletada no mês de setembro, durante o período da manhã, no Sítio Cabeço, situado na zona rural do município de Cuité, Paraíba (Figura 4), que pertence ao bioma Caatinga, localizado a uma latitude de 6° 28' 54" Sul e longitude de 36° 8' 59" Oeste e a uma altitude de 661 metros.



Figura 4 – Mapa da Paraíba com a localização do município de Cuité.

Fonte – Google Maps, 2015.

4.2. EXTRAÇÃO DA GOMA

Os processos de extração (isolamento e purificação) da goma do cajueiro foram feitos por meio de uma adaptação do método de Rinaudo e Milas (1991) modificado por Rodrigues, Paula e Costa (1993), e realizados no laboratório de tecnologia farmacêutica do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande em Cuité, Paraíba.

Os nódulos mais claros da resina foram selecionados, fragmentados e separados de resíduos da casca (Figura 5).

Posteriormente, a resina fragmentada foi pesada e realizada uma extração aquosa por meio de uma solução a 4% em água destilada a temperatura ambiente com agitação mecânica constante de 3000 rpm durante duas horas. Após esse processo, a solução teve seu pH ajustado entre 7,0 e 7,5 com a adição de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5 N e filtrada para um béquer com o auxílio de um funil e lã de vidro.

Tendo feito isso, aferiu-se o volume do filtrado e o submeteu a um processo de precipitação em álcool etílico 96 °GL, em uma proporção 1:3 de filtrado/álcool (uma parte de filtrado para três partes de álcool) e deixado em repouso por um período de duas horas para total precipitação. Após esse tempo, o sobrenadante foi retirado e armazenado para posterior recuperação do álcool em rotaevaporador. O precipitado passou, então, por três processos de

lavagem consecutivos que consistiam em submersão do material em uma mistura de etanol/água (1:3), etanol puro e acetona, respectivamente, com um intervalo de vinte minutos entre cada lavagem. Por fim, a goma isolada foi colocada em dessecador por quinze horas para secagem (Figura 6). Os procedimentos da etapa de isolamento são descritos na Figura 7.



Figura 5 – Resina do cajueiro triturada.

Fonte – Arquivos do autor, 2015.



Figura 6 – Goma isolada e seca em dessecador.

Fonte – Arquivos do autor, 2015.

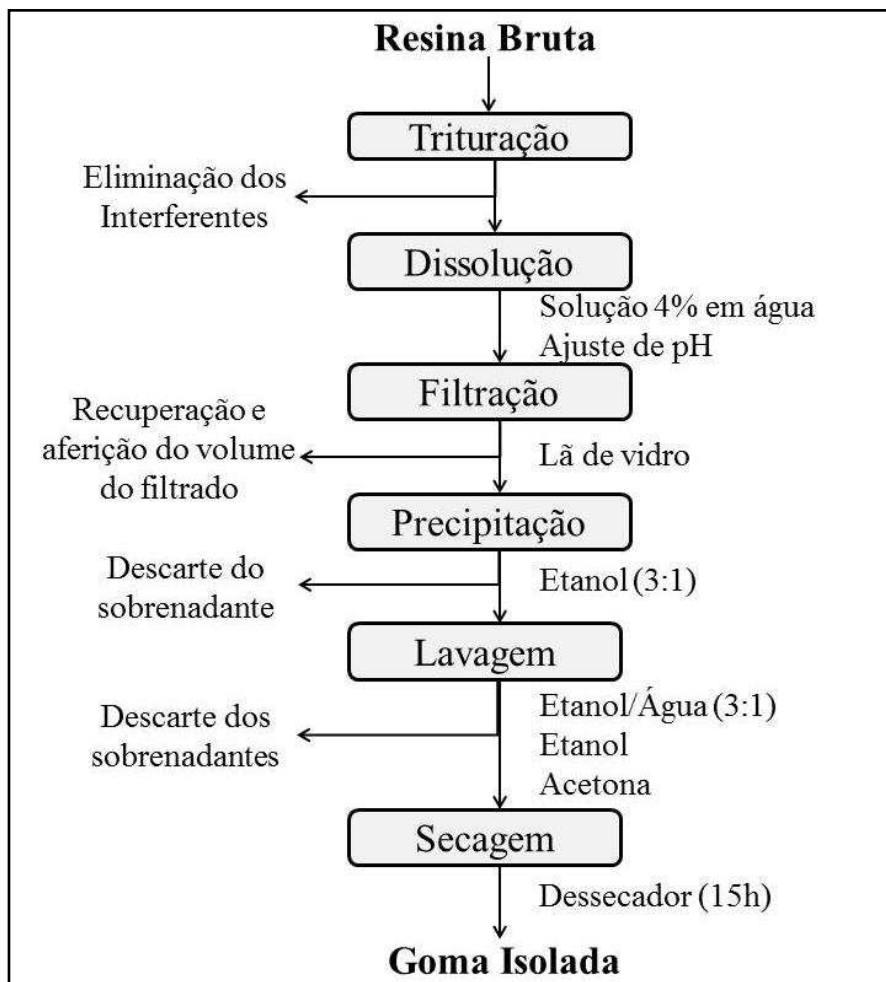


Figura 7 – Representação esquemática do método de isolamento da goma do cajueiro.

Fonte – Adaptado de Rodrigues, Paula e Costa (1993).

4.3. PURIFICAÇÃO DA GOMA EXTRAÍDA

A partir da goma isolada, como descrita anteriormente, foi realizado o processo de purificação da mesma, o qual é composto de três etapas.

Na primeira etapa (Figura 8), a goma foi pulverizada em grau e em seguida foi feita uma solução a 4% em água destilada com a adição de 5 g cloreto de sódio (NaCl) para cada 100 mL de solução e colocada para agitação mecânica constante a 3000 rpm durante duas horas. Após a dissolução, a solução foi filtrada para um béquer em um funil com o auxílio de lã de vidro e teve seu volume aferido. Tendo feito isso, a solução filtrada foi precipitada em álcool etílico 96 °GL em uma proporção de 1:3 (solução/álcool), permanecendo em repouso por duas horas. Depois de transcorrido esse tempo, o sobrenadante foi retirado e o precipitado

submetido a três processos de lavagem consecutivos em uma mistura de etanol/água (3:1), etanol puro e acetona, respectivamente, com intervalos de quinze minutos entre cada lavagem, para total precipitação da goma. Por fim, o material obtido foi posto para secagem em um dessecador por um período de quinze horas.

Após a secagem da goma no dessecador, conforme descrito anteriormente, a goma já purificada é submetida a uma segunda etapa de purificação semelhante a anterior (Figura 8), diferindo apenas na concentração da solução feita, que na primeira etapa foi de 4%, passa, nessa etapa, a ser de 3%. Os demais processos foram feitos de forma idêntica aos anteriormente citados.

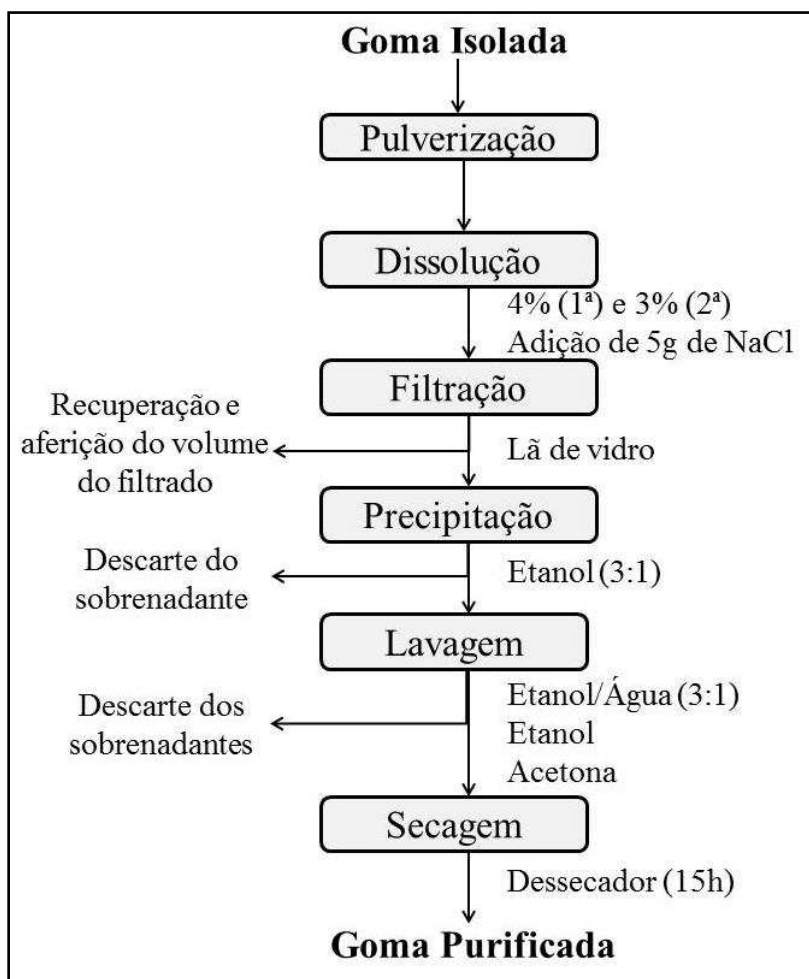


Figura 8 - Representação esquemática da primeira e segunda etapa de purificação da goma.

Fonte – Adaptado de Rodrigues, Paula e Costa (1993).

Finalmente, a terceira e última etapa de purificação é feita por meio da dissolução da goma duas vezes purificada, um pó branco, em solução a 4% em água destilada sob agitação mecânica constante a 3000 rpm durante duas horas. A solução foi então precipitada em álcool isopropílico em uma proporção de 1:1 (solução/álcool), e colocado em repouso por duas horas. Transcorrido esse tempo, o sobrenadante foi retirado e a goma precipitada foi colocada em dessecador por quinze horas. O pó branco obtido foi transferido para um almofariz e submetido a ciclos constantes de trituração com pistilo e secagem em estufa a 50 °C, até total secagem da goma (Figura 9).

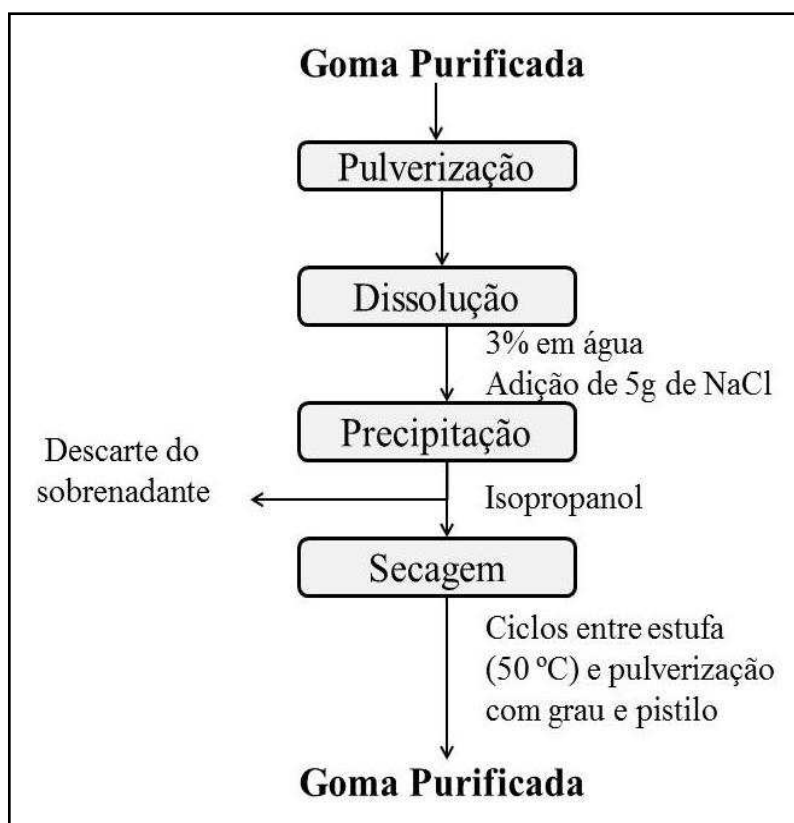


Figura 9 - Representação esquemática da terceira etapa de purificação da goma.

Fonte – Adaptado de Rodrigues, Paula e Costa (1993).

4.4. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.4.1. Microrganismos testados

Para esses testes foram utilizados quatro microrganismos, sendo duas bactérias e dois fungos. Para as bactérias foram eleitas uma Gram positiva, *Staphylococcus aureus*, e uma Gram negativa, *Escherichia coli*. Para os fungos, foram eleitos um fungo filamentoso, *Aspergillus niger*, e um leveduriforme, *Candida albicans*.

4.4.2. Método de macrodiluição em caldo

Para esse método foi utilizado o caldo nutriente para o crescimento das bactérias e o caldo Saboraud Dextrose para os fungos.

De cada microrganismo foi preparado um repique em meio inclinado do qual foi feita uma suspensão microbiológica após vinte e quatro horas de crescimento, exceto no caso do *A. niger* que foi deixado para crescer por quarenta e oito horas. Para isso, foram adicionados de dois a três mL de solução fisiológica (NaCl 9,0 g/L) estéril dentro do tubo e agitada cuidadosamente, até a total suspensão do microrganismo. No caso do *A. niger* a suspensão foi realizada em solução fisiológica com 2% de Polisorbato 80 para conseguir suspendê-lo. A padronização da suspensão microbiana foi realizada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 580 nm até uma turbidez de 25% de transmitância (Figura 10).

Para cada microrganismo testado foram utilizados doze tubos enumerados de um a doze, onde foi colocado 1 mL de caldo em todos, a partir do segundo. Foi feita a diluição seriada colocando-se 2 mL de uma solução com concentração de 200 mg/mL da goma no tubo um e desse foi retirado 1 mL e colocado no tubo dois, homogeneizado com o caldo, atingindo, assim, uma concentração de 100 mg/mL. Desse, foi retirado 1 mL e colocado no tubo três e homogeneizado, atingindo uma concentração de 50 mg/mL e assim sucessivamente até o tubo doze, pulando o tubo onze. Posteriormente, foram adicionados 100 µL das suspensões microbiológicas do tubo um ao tubo onze e homogeneizados. O tubo um serviu como solução mãe para diluição, o onze como controle positivo e o doze como controle negativo. Todos os tubos foram colocados na estufa bacteriológica a 37°C por vinte e quatro horas, com exceção dos que continham *A. niger*. Após esse tempo foi observado as turvações dos tubos.

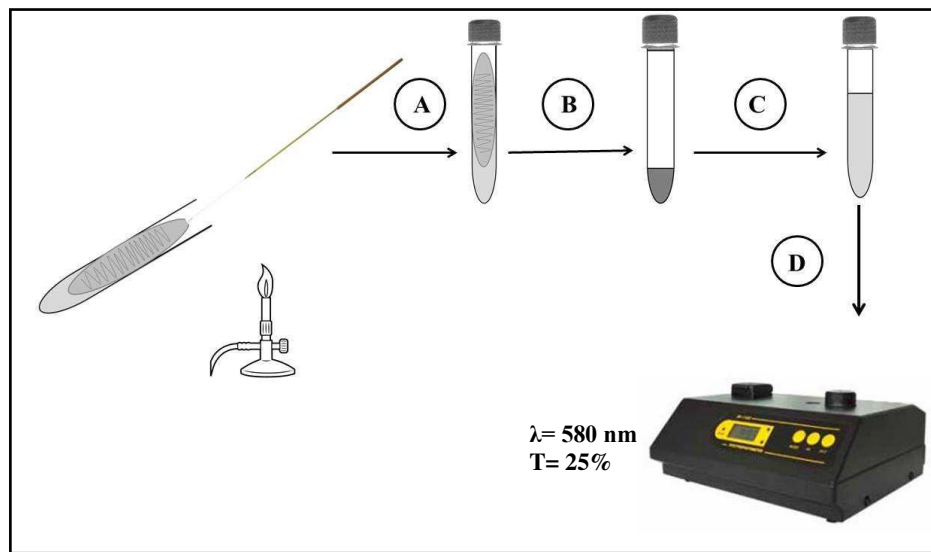


Figura 10 – Representação esquemática do procedimento de padronização do inóculo.

- A) Repique do microrganismo em meio inclinado; B) Suspensão do microrganismo em solução fisiológica estéril; C) Diluição da suspensão; D) Padronização da transmitância em espectrofotômetro.

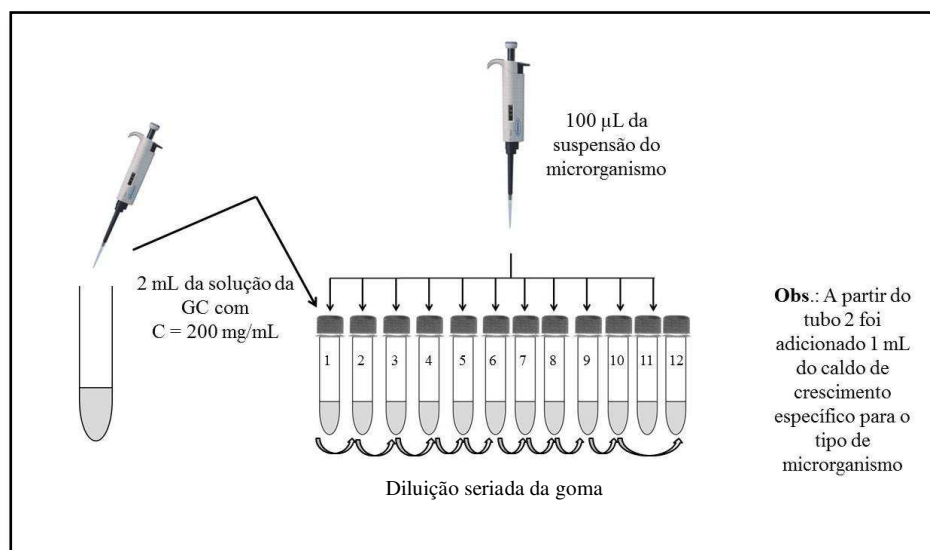


Figura 11 – Representação esquemática do método de macrodiluição em caldo.

Fonte – Adaptado de Bezerra, 2013.

Tabela 2 – Preparação dos tubos do ensaio para o teste de macrodiluição em caldo.

TUBOS	Meio (Caldo)	Microrganismo	Conc. da goma (mg/mL)
Tubo 01	-	100 µL	200
Tubo 02	1,0 mL	100 µL	100
Tubo 03	1,0 mL	100 µL	50
Tubo 04	1,0 mL	100 µL	25
Tubo 05	1,0 mL	100 µL	12,5
Tubo 06	1,0 mL	100 µL	6,25
Tubo 07	1,0 mL	100 µL	3,125
Tubo 08	1,0 mL	100 µL	1,562
Tubo 09	1,0 mL	100 µL	0,781
Tubo 10	1,0 mL	100 µL	0,390
Tubo 11	1,0 mL	100 µL	-
Tubo 12	1,0 mL	-	0,195

Fonte – Dados da pesquisa, 2015.

4.4.3. Método de difusão em ágar

Foram testadas quatro concentrações da goma: 150 mg/mL, 750 mg/mL, 35,5 mg/mL e 17,25 mg/mL, para a medição dos halos de inibição.

A preparação da suspensão microbiológica foi realizada igualmente ao método anterior. Os meios utilizados foram o ágar nutriente para as bactérias e ágar Saboraud-Dextrose para os fungos.

Com as suspensões feitas, foram preparados os meios contendo os inóculos adicionando-se 1,0 mL da suspensão em 50 mL do meio, ainda em estado líquido, a 50 °C.

Para o preparo de cada placa, foi colocado 18 mL meio estéril para formação da camada-base. Após a solidificação dessa camada, foram vertidos 5,0 mL do ágar-inóculo. Com as duas camadas uniformemente sobrepostas e solidificadas, foram colocados os quatro cilindros de aço inoxidável (10 mm de altura; diâmetros interno e externo de 6 e 8 mm, respectivamente) com distâncias aproximadamente iguais entre eles. Para os testes, foram adicionados 200 µL de cada concentração nos cilindros. Todo o material foi previamente autoclavado.

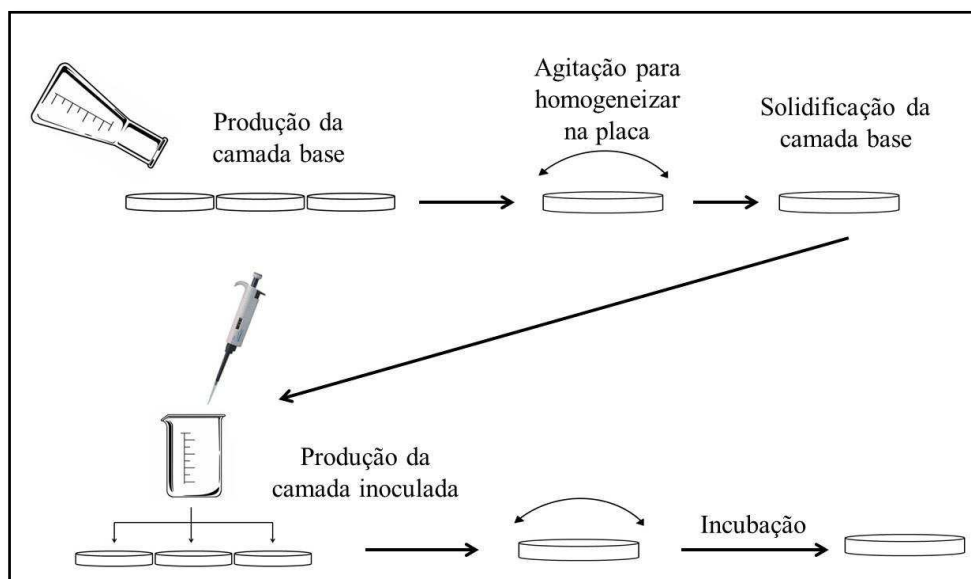


Figura 12 – Representação esquemática da preparação do meio para o método de difusão em ágar.

Fonte – Adaptado de Bezerra, 2013.

4.4.4. Determinação da atividade antimicrobiana da resina bruta

Para a determinação da atividade antibacteriana e antifúngica da resina bruta (RB) foi utilizado o método de difusão em ágar.

Os microrganismos, os meios e os materiais utilizados foram os mesmos que os usados para a goma purificada, bem como as técnicas de suspensão do microrganismo, padronização da mesma, preparação do inóculo e montagem das placas.

A solução da resina bruta foi preparada por meio da fragmentação da mesma e retirada dos resíduos da casca e outros interferentes maiores, e então pesada e posta para dissolver em água destilada a temperatura ambiente, a fim de obter uma solução de concentração igual a 150 mg/mL, lançando mão de agitador mecânico à 3000 rpm até total solubilização da resina. A partir dessa concentração foram feitas diluições para se obter as concentrações de 75 mg/mL, 37,5 mg/mL e 18,57 mg/mL. Em cada placa foram colocados quatro cilindros com 200 µL das referidas soluções e incubadas em estufas à aproximadamente 37 °C, com exceção do *A. niger*. Todos os testes foram feitos em triplicatas.

4.5. TESTE DE GENOTOXICIDADE *Allium cepa*

O potencial genotóxico da GC foi determinado utilizando o *Allium cepa* como organismo teste, seguindo a técnica proposta por Fiskesjo (1985). Foram usadas quatro concentrações para serem analisadas, que foram de 0,56 mg/mL, 1,11 mg/mL, 1,66 mg/mL e 2,22 mg/mL, mais os dois controles. Para o controle negativo foi usada água destilada e para o controle positivo foi usado o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 300 μ M por 24h. Para cada solução testada, foram tratadas 5 cebolas.

Inicialmente as cebolas foram limpas, posteriormente as raízes velhas foram removidas e postas para germinar em água destilada até suas raízes atingirem cerca de 1 cm de comprimento, por 24 horas. Depois de germinadas, foram retiradas as raízes quebradas sem tocar nas vizinhas e, então, foram tratadas com as soluções da goma por 24 horas. Transcorrido o tempo de tratamento, as raízes foram retiradas, lavadas com água e fixadas em fixador de Carnoy (3:1 – álcool etílico 100% e ácido acético 45%).



Figura 13 – Germinação dos bulbos de cebolas (*Allium cepa*).

A) Germinação em água destilada; **B)** Tratamento das raízes nos controles positivo e negativo e nas soluções com concentrações crescentes da goma a serem testadas.

Fonte – Arquivos do autor, 2015.

As lâminas contendo as raízes selecionadas do grupo teste e do grupo controle foram preparadas de acordo com o protocolo adotado por Fiskesjo (1985), para isso, as raízes foram lavadas novamente em água destilada, tomando sempre o cuidado de não pegá-las pela extremidade de crescimento, a coifa. Foram, posteriormente, submetidas a um processo de hidrólise ácida quente, usando HCl 1N à 60 °C em estufa por 10 minutos. Foram lavadas novamente e colocadas no reativo de Schiff (0,5% fucsina básica, 1% metabissulfito de sódio, 0,6% HCl e água q.s.) por 30 minutos no escuro. Antes de serem montadas as lâminas, as raízes foram lavadas em água sulfurosa.

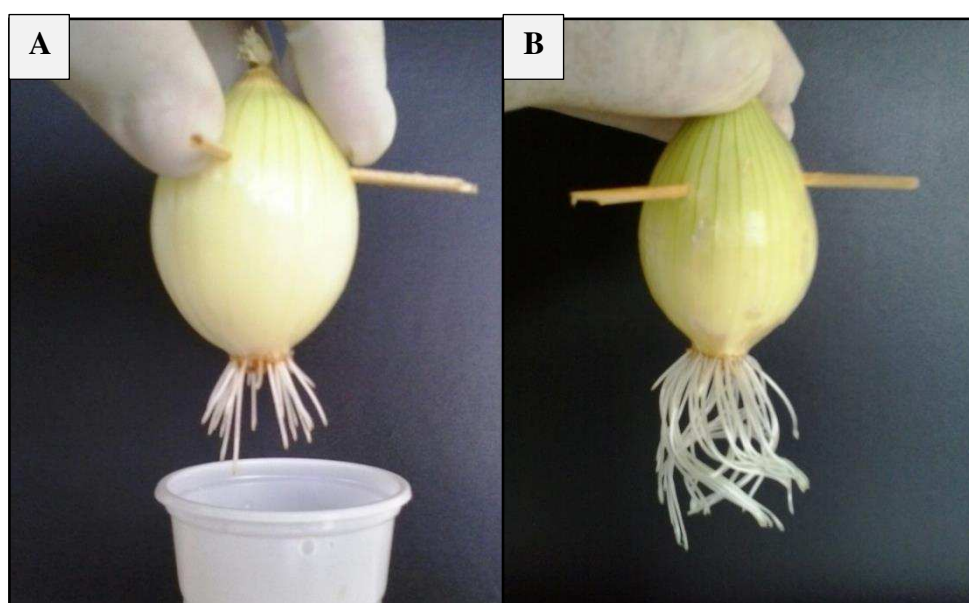


Figura 14 – Crescimento das raízes da cebola.

A) Raiz após germinação em água; **B)** Raiz após tratamento nas soluções teste.

Fonte – Arquivos do autor, 2015.

Com o auxílio de uma lupa, a coifa da raiz foi cortada com um bisturi deixando só o pedaço mais corado, sem deixar secar (adicionando uma gota de ácido acético 45%). Então, a coifa foi cortada em pedaços menores e com uma lamínula em cima foi feito um esmagamento até o material ficar bem espalhado. Foram preparadas 3 lâminas para cada cebola e analisadas 1000 células por lâmina.

Na análise microscópica foi determinado o potencial citotóxico por meio do Índice Mitótico (IM) - relação entre o número de células em divisão e o número total observado; e o potencial genotóxico, por meio das Aberrações Cromossômicas Metafásicas (ACM) e Anafásicas (ACA) – alteração na estrutura ou número total dos cromossomos das metáfases e

anáfases, respectivamente. Na determinação do potencial tóxico foi utilizada a análise macroscópica, observando-se a formação de tumores e presença de raízes torcidas e avaliando o crescimento das mesmas.

Os valores obtidos para o IM, AC e o tamanho das raízes foram analisados pelo teste de Mann-Whitney, sendo considerados estatisticamente diferentes do controle negativo quando $p < 0,05$.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. EXTRAÇÃO DA GOMA DO CAJUEIRO

Rodrigues, Paula e Costa (1993), realizaram um estudo no qual compararam o método descrito por Anderson, Bell e Millar (1974) com o descrito por Rinaudo e Millas (1991) para o isolamento da goma do cajueiro. Os métodos descritos apresentaram gomas com aspectos similares de cor, branca, solúveis em água e formação de soluções límpidas, porém, o segundo método foi o qual proporcionou maior rendimento e menor gasto de tempo, se mostrando o mais adequado para se isolar a goma do cajueiro (GC). Tendo em vista esses resultados, optou-se pela utilização do método sugerido por Rinaudo e Milas (1991) para o isolamento da goma com a realização de uma etapa de extração e três purificações, assim como sugerido por Costa, Rodrigues e Paula (1996), pois, foi essencial para a obtenção de um material de elevado grau de pureza, necessário para estudos mais refinados.

A goma isolada nesse trabalho apresentou-se como um pó branco, fino e seco na forma de sal de sódio com aspecto semelhante à cânfora (Figura 15) demonstrando boa reprodutibilidade em relação às características físicas visuais da goma, porém apresentou rendimento de 45% após a última purificação, significativamente menor que o encontrado por Rodrigues, Paula e Costa (1993), 78%, e o obtido por Silva (2014), 59%.



Figura 15 – Goma do cajueiro purificada.

Fonte – Arquivo do autor, 2015.

Essa diminuição do rendimento pode ser explicada tanto pelas variações na coleta e armazenamento das resinas como pelo processamento das etapas de extração e purificação.

Gobbo-Neto e Lopes (2007) afirmam que variações na sazonalidade, ritmo circadiano, clima, índice pluviométrico e fase de desenvolvimento da planta, bem como a disponibilidade hídrica e de nutrientes, a altitude, poluição atmosférica, a indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos podem influenciar não só a quantidade total de metabólitos produzidos pelas plantas, mas também as proporções relativas dos componentes da mistura.

Como citado anteriormente, fatores relacionados ao processamento da metodologia também podem ter influenciado no rendimento final da goma, bem como observado por Silva (2014). Além desses, a mudança na última etapa de purificação, troca da liofilização por precipitação em isopropanol e ciclos de secagem em estufa e trituração com grau e pistilo, soma-se aos fatores que podem ter diminuído o rendimento da goma, uma vez que essa passa por uma etapa a mais de precipitação e lavagens, porém essa modificação não alterou as características físicas da goma, apresentando-se como uma alternativa mais barata para a da goma purificada.

5.2.DETERMINAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS

5.2.1. Método de macrodiluição em caldo

De acordo com o observado na Tabela 3, o uso do método de macrodiluição em caldo para determinar a atividade da goma do cajueiro se mostrou ineficaz, uma vez que todos os tubos que continham a goma turvaram, inclusive o tubo 12 que continha apenas o meio com a goma, ou seja, é impossível determinar se a goma apresentou ou não atividade antimicrobiana por esse método, pois sua capacidade de turvar o meio de cultura interferiu na análise.

Esse fato apresenta-se como um fator limitante para o método, pois o mecanismo de avaliação é a percepção visual individual, que por si só está sujeita a um viés analítico. Por outro lado, substâncias que naturalmente tem a capacidade de turvar soluções são impossibilitadas de serem usadas.

Uma forma de se averiguar os resultados que foram omitidos seria a realização do plaqueamento dos meios contidos nos tubos, a fim de se observar onde cresceria ou não os microrganismos.

Tabela 3 – Resultado do método de diluição em caldo.

TUBOS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
[]	200	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,562	0,781	0,390	-	0,195
(mg/mL)												
<i>E. coli</i>	-	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
<i>S. aureus</i>	-	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
<i>C. albicans</i>	-	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
<i>A. niger</i>	-	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

T – Houve turvação do meio; NT – Não houve turvação.

Tubo 1 – Solução mãe da goma; tubos 2-10 – sistemas testes; tubo 11 – controle negativo; tubo 12 – controle positivo.

Fonte - Dados da pesquisa, 2015.

**Figura 16** – Tubos usados no teste de macrodiluição em caldo.

Tubo 1 – Solução mãe da goma; tubos 2-10 – sistemas testes; tubo 11 – controle negativo; tubo 12 – controle positivo.

Fonte – Arquivo do autor, 2015.

5.2.2. Determinação da atividade antimicrobiana da goma purificada pelo método de difusão em ágar

Na literatura, atualmente, é possível encontrar alguns relatos sobre a atividade antimicrobiana de extratos de diferentes partes do cajueiro, como por exemplo, a do extrato hidroalcolólico da casca que mostrou significativa atividade antimicrobiana *in vitro* sobre diferentes cepas de *Streptococcus* sp. e linhagens de *Staphylococcus aureus* resistentes (MRSA) e sensíveis (MSSA) a meticilina (MELO et al., 2006; SILVA et al., 2007).

De acordo com a Tabela 4, observa-se que a goma do cajueiro, dentre as concentrações estudadas, mostrou atividade apenas sobre o fungo leveduriforme *C. albicans* em uma Concentração Inibitória Mínima (CIM) de 150 mg/mL, apresentando halo de inibição com diâmetro maior de 10 mm (Figura 17).

Tabela 4 – Tamanhos do halo de inibição (mm) provocados pela goma purificada do cajueiro nos cultivos de diferentes microrganismos (Média±Desvio Padrão).

[] mg/mL	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
150	NI	NI	12,7±0,47	NI
75	NI	NI	NI	NI
37,5	NI	NI	NI	NI
28,75	NI	NI	NI	NI

NI – Halo de inibição menor que 10 mm ou ausente.

Fonte – Dados da pesquisa, 2015.

Esses resultados divergem daqueles encontrados por Marques, Albuquerque e Xavier-Filho (1992), pois conseguiram observar inibição do crescimento de duas cepas de fungos do gênero *Penicillium* sp, seis do gênero *Aspergillus* sp e uma de *Verticilium* sp, bem como de bactérias, como o *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens* e *Bacillus subtilis*. Em contrapartida, nos estudos realizados por Campos et al. (2012), a GC conseguiu inibir o crescimento das bactérias *Escherichia coli*, MRSA (*Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina) e MSSA (*Staphylococcus aureus* Sensível a Meticilina), *Listeria innocua* e

Enterococcus faecium, porém sendo inativa contra a bactéria *Lactobacillus acidophilus* e do fungo *Candida albicans*.

Os microrganismos em comum entre os dois estudos acima citados e o presente trabalho foram a *E. coli*, uma bactéria Gram-negativa, e a *C. albicans*, um fungo leveduriforme, onde, neste trabalho, esses microrganismos mostraram-se resistentes e sensíveis a GC, respectivamente, o oposto do observado nos estudos de Marques, Albuquerque e Xavier-Filho (1992) e Campos et al. (2012).

Pode se explicar essa diferença de resultados pela diferença de métodos de purificação utilizados, que podem ter promovido quantidades diferentes de metabólitos, entre os quais aquele responsável pela atividade antimicrobiana (MUROI; KUBO e KUBO, 1993; CAMPOS et al., 2004; TORQUATO et al., 2004).

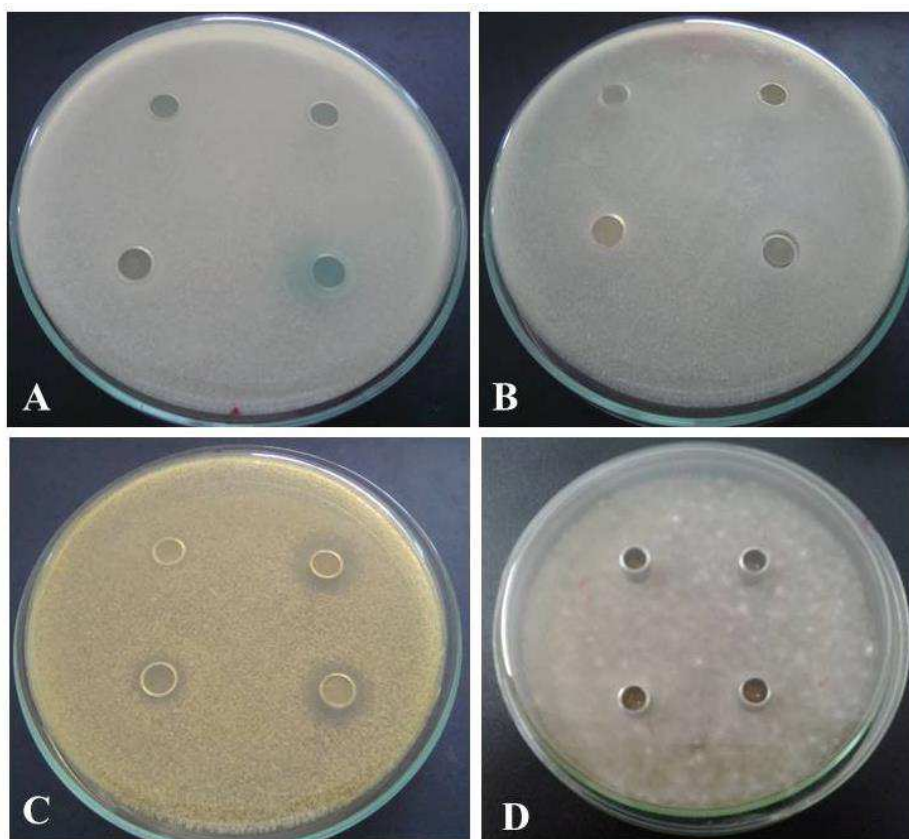


Figura 17 – Perfil da inibição do crescimento de diferentes microrganismos pela goma purificada do cajueiro.

A) *E. coli*; **B)** *S. aureus*; **C)** *C. albicans*; **D)** *A. niger*.

Fonte- Arquivos do autor, 2015.

5.2.3. Determinação da atividade antimicrobiana da resina bruta pelo método de difusão em ágar

Além da goma purificada, foi verificado o potencial da resina bruta do cajueiro inibir o crescimento de bactérias e fungos a fim de obter informações sobre a capacidade de interferência do método de extração e purificação sobre esse efeito.

Como é possível observar na Tabela 5, a resina bruta não apresentou atividade antimicrobiana sobre nenhum dos microrganismos testados (Figura 18). Esses resultados discordam daqueles obtidos por Campos et al. (2012) que encontraram atividade contra alguns microrganismos, entre eles MRSA e MSSA, porém no mesmo estudo a resina também não foi capaz de inibir o crescimento da *E. coli*, igual ao atual trabalho.

Tabela 5 - Tamanhos do halo de inibição (mm) provocados pela resina bruta do cajueiro nos cultivos de diferentes microrganismos.

[] mg/mL	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
150	NI	NI	NI	NI
75	NI	NI	NI	NI
37,5	NI	NI	NI	NI
28,75	NI	NI	NI	NI

NI – Halo de inibição menor que 10 mm ou ausente.

Fonte – Dados da pesquisa, 2015.

Ao se comparar o comportamento da goma purificada com a da resina bruta do cajueiro nota-se que são semelhantes, pois a goma teve atividade somente contra a *C. albicans* na maior concentração testada, enquanto a resina não apresentou atividades em nenhum dos cultivos de microrganismos testados. Dessa forma, o método de purificação utilizado mostrou pouca influência nos resultados, mostrando apenas uma pequena melhoria na atividade sobre a levedura que pode ter sido por causa do isolamento ou purificação de alguma substância desconhecida da resina com essa atividade.

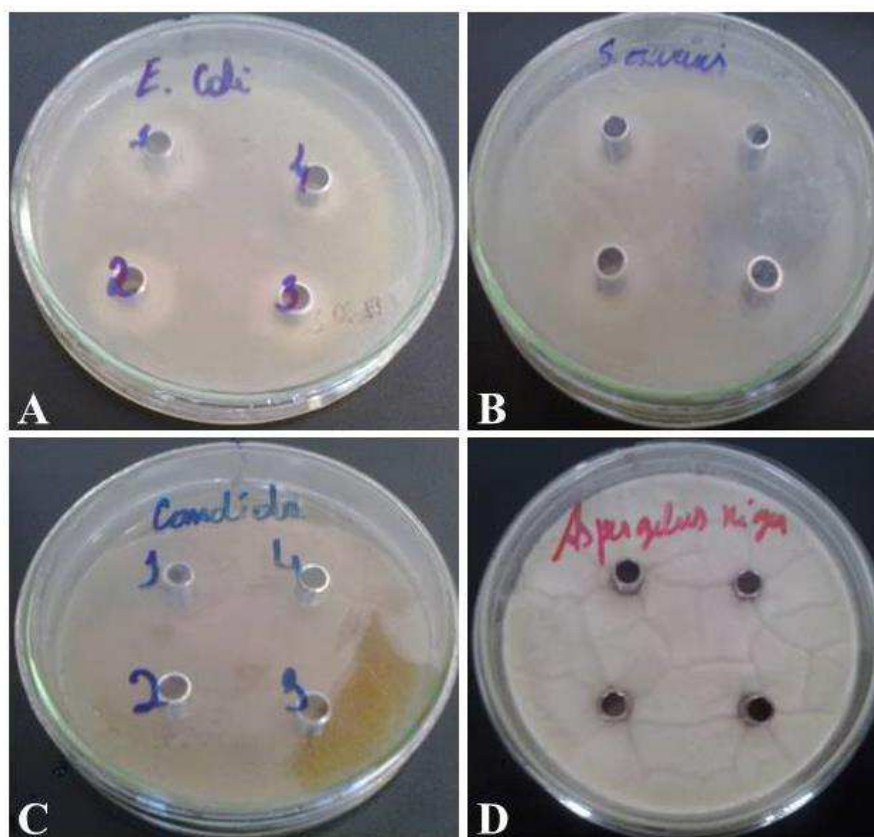


Figura 18 – Perfil da inibição do crescimento de diferentes microrganismos pela resina bruta do cajueiro.

A) *E. coli*; B) *S. aureus*; C) *C. albicans*; D) *A. niger*.

Fonte- Arquivos do autor, 2015.

A diferença em relação aos estudos anteriormente citados pode ser explicada pelas variações nos processos de coleta e armazenamento da resina, pelo processamento das etapas de extração e purificação, bem como aos processos relacionados ao desenvolvimento da planta e assim produção de metabólitos primários e secundários, e igualmente todos os outros citados para o rendimento da goma no item 5.1.

5.3. DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL GENOTOXICO UTILIZANDO O *Allium cepa* COMO ORGANISMO TESTE

Os valores das frequências das fases mitóticas encontradas nas raízes do *Allium cepa* tratados com os controles e soluções de diferentes concentrações da goma (C1 = 0,56 mg/mL, C2 = 0,11 mg/mL, C3 = 1,66 mg/mL e C4 = 2,22 mg/mL) são dados na Tabela 6.

Tabela 6 – Frequências das fases mitóticas encontradas nas células de *Allium cepa* tratadas com a goma do cajueiro (Média±Desvio Padrão).

	Prófase	Metáfase	Anáfase	Telófase
CN	61,0±1,54	31,4±1,45	26,3±0,87	24,5±1,58
CP	36,7±7,21	17,0±2,54	14,3±1,81	11,6±2,09
C1	58,6±3,76	28,9±2,33	21,9±3,27	22,5±2,49
C2	55,5±1,88	30,9±2,45	21,8±1,80	23,7±3,94
C3	52,9±4,92	25,7±2,27	24,1±2,02	23,7±2,70
C4	62,6±1,59	26,8±2,46	23,4±1,46	22,2±1,23

CN= água destilada; CP= peróxido de Hidrogênio 300 µM; C1=0,56 mg/mL; C2= 1,11 mg/mL; C3= 1,66 mg/mL; C4= 2,22 mg/mL.

Fonte – Dados da pesquisa, 2015.

As concentrações da goma utilizadas foram baseadas em uma situação hipotética considerando um comprimido com massa de 500 mg, constituído inteiramente pela goma. Sendo o volume gástrico cerca de 900 mL, com o estômago não vazio, esse comprimido assumiria uma concentração de 0,56 mg/mL (C1) após dissolução. As concentrações C2, C3 e C4 foram calculadas como múltiplas de C1, sendo 2x, 3x e 4x maior, respectivamente.

As análises, AC e Micronúcleos (MN) em células de *A. cepa*, atualmente têm sido relatados na literatura como indicadores eficientes de ação direta sobre DNA, porém a análise de AC em *A. cepa* mostrou-se mais vantajosa na determinação do potencial genotóxico, uma vez que vários autores têm demonstrado a eficiência deste para investigar os mecanismos de ação dos agentes testados no DNA, o que permite uma melhor compreensão dos efeitos promovidos por esses agentes (LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Outro importante determinante do nível de citotoxicidade de uma substância é o IM, pois por meio deste também é possível determinar possíveis danos ao DNA da célula. Uma diminuição no IM de um bulbo tratado com determinada substância, em relação ao do controle negativo, pode indicar alterações decorrentes da ação dos agentes expostos, bem como um aumento significa um aumento da divisão celular, o que pode ser prejudicial, levando a proliferação desordenada das células (FERNANDES; MAZEO; MARIN-MORALES, 2007; LEME; MARIN-MORALES, 2009).

Na tabela 7 são apresentados os resultados do IM e AC das células tratadas com as soluções da goma do cajueiro pelo método do *Allium cepa*.

Tabela 7 – Valores dos IM e AC Metafásicas e Anafásicas (ACM e ACA) obtidos pelo teste do *Allium cepa* para amostras de diferentes concentrações da GC (Média±Desvio Padrão).

Amostras	IM	ACM	ACA
CN	14,3±0,30	8,3±0,89	4,5±0,37
CP	7,9*±0,82	24,9*±1,86	15,2*±0,84
C1	13,2±0,79	9,3±1,19	4,2±0,66
C2	13,3±0,69	9,2±0,98	4,7±0,63
C3	12,9±1,02	8,8±1,09	4,8±0,38
C4	13,5*±0,41	9,3±0,33	4,9*±0,49

*Estatisticamente significativo ($p < 0,05$), em relação ao controle negativo (teste de Mann-Whitney).

CN= água destilada; CP= peróxido de Hidrogênio 300 μ M; C1=0,56 mg/mL; C2= 1,11 mg/mL; C3= 1,66 mg/mL; C4= 2,22 mg/mL.

Fonte – Dados da pesquisa, 2015.

Uma das principais vantagens do uso de gomas e polímeros naturais é sua baixa toxicidade. No presente estudo, as soluções das amostras C1, C2 e C3 não mostraram alteração nos valores de IM e AC nas células do *Allium cepa*, ou seja, não provocou alterações nas estruturas do DNA e assim não evidenciando potencial citotóxico ou genotóxico, se mostrando aparentemente segura nessas concentrações. Porém, quando houve um aumento na concentração da goma para 2,22 mg/mL (C4) a goma começou a provocar alterações tanto na média de divisão celular (IM) bem como alterações irregulares na estrutura dos cromossomos (AC) em uma das fases da mitose, a anáfase.

Algumas das aberrações cromossômicas encontradas no presente trabalho podem ser observadas na Figura 19, porém, para avaliar o potencial genotóxico foram utilizadas para tratamento estatístico apenas as aberrações nas metáfases e anáfases.

Na análise macroscópica das raízes não foi visto a presença de tumores e poucas raízes apresentaram viscosidade alterada bem como coloração amarelada, o que não foi suficiente para afirmar toxicidade da goma. Quanto ao tamanho do crescimento, apenas a amostra C4 mostrou um tamanho significativamente menor que o Controle Negativo (Tabela 8), demonstrando coerência com os resultados da análise microscópica.

Tabela 8 – Comprimento (cm) das raízes de *Allium cepa* tratadas com a goma do cajueiro.

Amostras	Média±Desvio Padrão
CN	2,3±0,04
CP	1,2*±0,24
C1	2,2±0,05
C2	2,2±0,15
C3	2,2±0,13
C4	2,1*±0,05

*Estatisticamente significativo ($p < 0,05$), em relação ao controle negativo (teste de Mann-Whitney).

CN= água destilada; CP= peróxido de Hidrogênio 300 μ M; C1=0,56 mg/mL; C2= 1,11 mg/mL; C3= 1,66 mg/mL; C4= 2,22 mg/mL.

Fonte – Dados da pesquisa, 2015.

Os resultados da análise do IM e AC sugeriram que um aumento na concentração da goma a 2,22 mg/mL pode conferir um comportamento citotóxico e genotóxico a goma do cajueiro. Embora os resultados de toxicidade da análise macroscópica tenham coincidido com os da análise microscópica, há uma grande possibilidade de variação biológica entre os bulbos das cebolas estudadas, no que diz respeito aos tamanho das raízes, o que pode ter influenciado no resultado final.

Apesar desses resultados, quando comparados ao controle positivo, segundo o mesmo método e admitindo os mesmos parâmetros para determinação da significância, todas as análises de todas as amostras se mostraram significativamente diferentes do controle positivo, inclusive a amostra C4, evidenciando que por mais que esta tenha apresentado alguns parâmetros indicativos de potencial genotóxico esse comportamento foi pequeno, representado pela falta de semelhança com o controle positivo.

Além disso, na formulação de comprimidos, a goma arábica, quando utilizada como aglutinante, é usada em cerca de 5 mg. Se utilizar a goma do cajueiro nessa mesma quantidade, ela assumiria uma concentração de 0,056 mg/mL no estômago não vazio, ou seja, muito menor daquela em foi observada potencial citotóxico, genotóxico e tóxico, mostrando

que em uma concentração usual real a goma do cajueiro se mostra segura para o uso como excipiente na formulação de formas farmacêuticas sólidas.

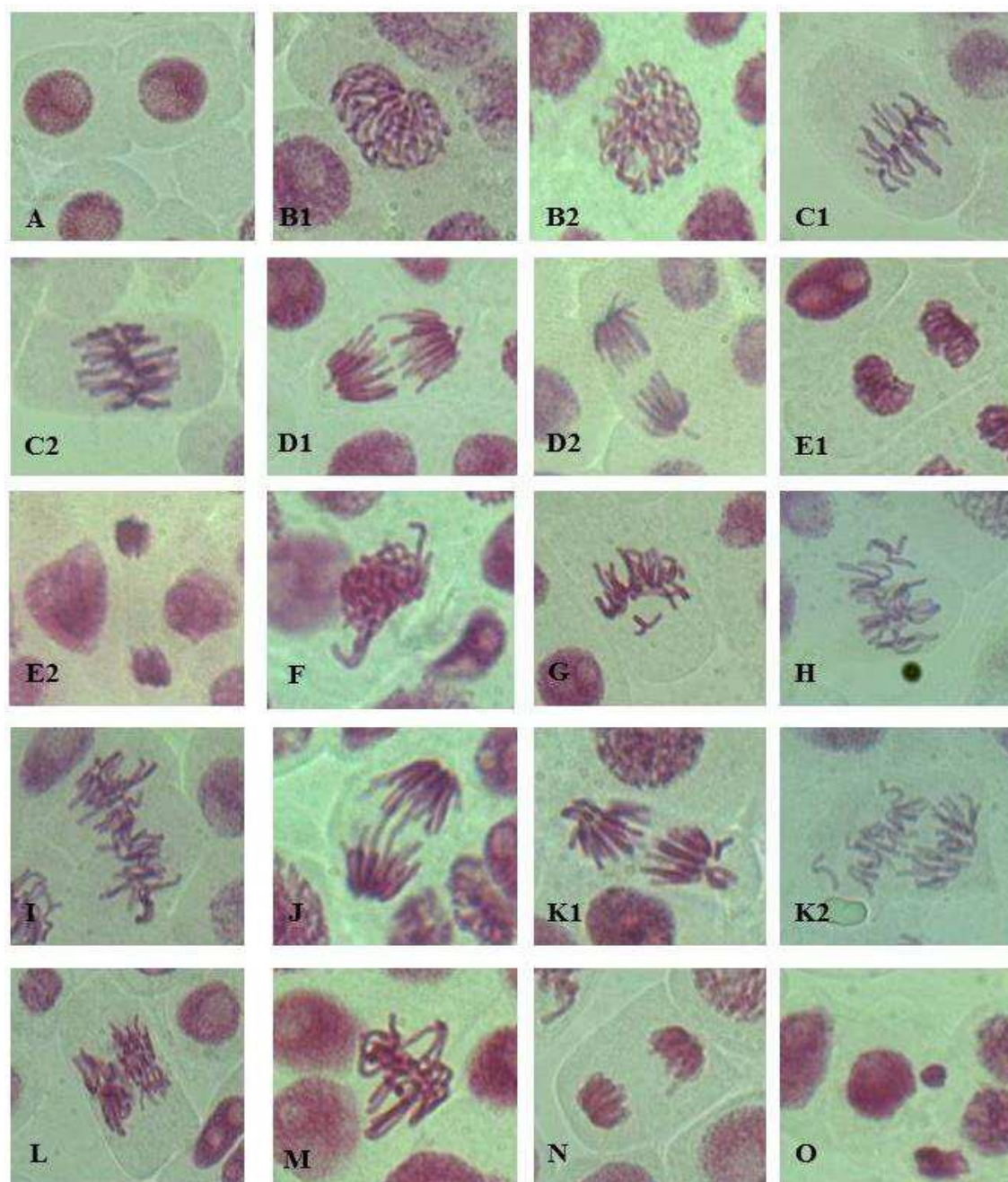


Figura 19 – Aberrações encontradas nas células de *Allium cepa* após exposição a diferentes concentrações da goma do cajueiro

A) Interfase; B1 e B2) Prófase; C1 e C2) Metáfase; D1 e D2) Anáfase; E1 e E2) Telófase; F) Prófase com deslocamento de cromossomos; G) Metáfase com quebra cromossômica; H) C-metáfase; I) Célula poliplóide; J) Anáfase com ponte cromossômica; K1 e K2) Anáfase com quebra cromossômica; L) Célula metafásica multinucleada; M) Metáfase com aderência cromossômica; N) Telófase com atraso; O) Micronúcleo (MN).

Fonte – Arquivo do autor, 2015.

A Figura 20 trás os gráficos que relacionam os valores do IM, ACM, ACA e do tamanho das raízes e seus respectivos Desvios Padrão. Nela percebemos que houve pouca variação entre os resultados obtidos para as diferentes concentrações da goma e que os Desvios-Padrão também foram pequenos, mostrando uma boa reprodutibilidade dos resultados com pouca interferência da variação de concentração da goma nos itens analisados, mesmo a amostra C4 que apresentou alterações no IM, AC e tamanho das raízes teve uma diferença pequena nos valores finais.

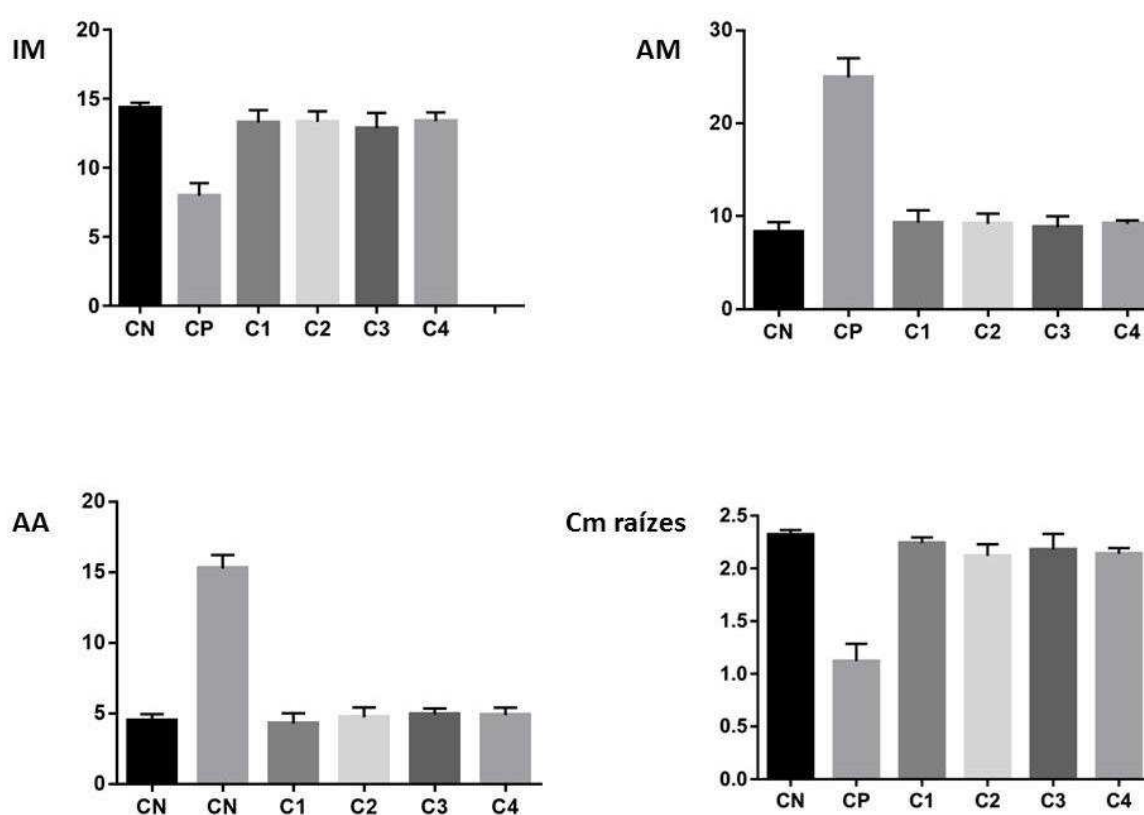


Figura 20 – Gráficos de comparação dos valores de IM, ACM, ACA e tamanho das raízes de *Allium cepa* tratadas com diferentes concentrações da goma do cajueiro.

Fonte- Dados da pesquisa, 2015.

6. CONCLUSÕES

Apesar do rendimento final da goma, após o isolamento e três purificações, ter sido menor que o esperado, a mesma apresentou características semelhantes ao relatado na literatura, como um sal de sódio, fino e seco com aspecto semelhante à cânfora, demonstrando que o método descrito se mostrou uma alternativa barata e eficaz para secagem final da goma.

Já o método de macrodiluição em caldo foi ineficaz para a determinação da atividade antimicrobiana da goma do cajueiro, uma vez que a própria goma conferiu aspecto turvo ao meio, impossibilitando a observação de onde houve inibição do crescimento dos microrganismos.

Na comparação entre as atividades da goma purificada e resina bruta, apenas a goma apresentou atividade contra a levedura *Candida albicans*, enquanto a resina não apresentou atividade em nenhum dos microrganismos. Nesse caso, a purificação melhorou esse comportamento da goma.

Na avaliação do potencial citotóxico, genotóxico e tóxico da goma do cajueiro pelo método *Allium cepa*, as amostras C1, C2 e C3, mostraram comportamento seguro nas devidas concentrações, porém, com o aumento da concentração na amostra C4, houve alterações significativas no IM, AC Anafásicas e no tamanho das raízes. No entanto, em concentrações usuais a goma do cajueiro se mostrou segura para o uso como excipiente de comprimidos.

7. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AGRA, M.F. et al. Survey of medicinal plants used in the region Northeast of Brazil.

Revista Brasileira de Farmacognosia, João Pessoa, v. 18, n. 3, p. 472-508, Set. 2008.

AKINPELU, D. A. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. **Fitoterapia**, Amsterdam, v. 72, n. 1, p. 286-287, Out. 2001.

ANDERSON, D. M. W.; BELL, P. C.; MILLAR, J. R. A. Composition of gum exudates from *Anacardium occidentale*. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 13, n. 1, p. 2189-2193, Jan. 1974.

ANDRADE, K. C. S. et al. Goma de cajueiro (*Anacardium occidentale*): Avaliação das modificações químicas e físicas por extrusão termoplástica. **Polímero**, São Carlos, v. 23, n. 5, p. 667-671, Out. 2013.

ANVISA. **Farmacopeia Homeopática Brasileira**. 3ª ed., Brasília, 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/farmacopeiabrasileira/conteudo/3a_edicao.pdf>. Acesso em: 10 set. 2014.

ARAUJO, I. M. S. et al. Contribution of the cashew gum (*Anacardium occidentale* L.) for development of layer-by-layer films with potential application in nanobiomedical devices. **Materials Science and Engineering**, Amsterdam, v. 32, n. 6, p. 1588-1593, Ago. 2012.

BANDEIRA, C. T.; **Métodos de preparação da goma de cajueiro**. EMBRAPA : Fortaleza, 1991.

BARCELOS, G. R. M. et al. Genotoxicity and antigenotoxicity of cashew (*Anacardium occidentale* L.) in V79 cells. **Toxicology in Vitro**, United Kingdom, v. 21, n. 8, p. 1468–1475, Jun. 2007.

BEMILLER, J. N.; WHISTLER, R. L.; **Introduction to industrial gums**. In _____ Industrial gums: polysaccharides and their derivatives. 3. ed. Indiana: Elsevier, 1993. p. 1-19.

BEZERRA, P. X. **Avaliação da qualidade de sabonetes íntimos**. 2013. 56f. Monografia (Bacharelados em Farmácia) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de educação e Saúde, Cuité, 2013.

CAMPOS, D. A. et al. Study of antimicrobial activity and atomic force microscopy imaging of the action mechanism of cashew tree gum. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom v. 90, n. 1, p. 270-274, Set. 2012.

CUNHA, P. et al. Oxidation of cashew tree gum exudate polysaccharide with tempo reagent. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v.18, n. 1, p. 85-92, Nov. 2007.

CUNHA, P. L. R.; PAULA, R. C. M.; FEITOSA; J. P. A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Quim. Nova**, v. 32, n. 3, p. 649-660, 2009

DANIDA FOREST SEED CENTRE. *Anacardium occidentale* L. **SEED LEAFLET**, Humlebaek. n. 11, 2000. . Disponível em: <<http://www.dfsc.dk>>. Acesso em: 10 set. 2014.

DANTAS, I. C. *Anacardium occidentale* L. In _____ O Raizeiro. Campina Grande: EDUEP, 2007. p. 135-137.

DAS, B.; NAYAK , A.K.; NANDA, U. Topical gels of lidocaine HCl using cashew gum and Carbopol 940: preparation and in vitro skin permeation. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 62, n. 1, p. 514-517, Nov. 2013.

DEOGADE, U. M.; DESHMUKH, V. N.; SAKARKAR, D. M. Natural gums and mucilage's in NDDS: applications and recent approaches. **International Journal of PharmTech Research**, Índia, v. 4, n. 2, p. 799-814, Abr. 2012.

FERNANDES, T. C. C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to triXuralin herbicide. v. 88, p. 252-259, 2007. DOI: 10.1016/j.pestbp.2006.12.003.

FIGUEIREDO, L. P. **Análise de excipientes em comprimidos de fármacos comercializados**. 2012. 167 f. Dissertação (Mestrado em Nanociência e Materiais Avançados) – Departamento de Nanociência e Materiais Avançados, Universidade Federal do ABC, São Paulo, 2012.

FISKESJO , G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, United Kingdom, v. 102, n. 1, p. 99-112, Mar. 1985.

FISKESJO , G. The Allium test - an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research**, v. 197, p. 243-260, 1988.

FOOD INGREDIENTS BRASIL. Dossiê das gomas. **Revista-fi.com**, São Paulo, n.17, p. 26-46 2011. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/176.pdf>>. Acesso em: 17 set. 2014.

FRANCHETTI, S. M. M.; MARCONATO, J. C. Polímeros Biodegradáveis – Uma solução parcial para diminuir a quantidade dos resíduos plásticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 811-816, Jul. 2006.

FREITAS, J. S.; MOTHÉ, C. G.; MOURAO, P. A. S. Análise térmica e cromatografia de exclusão por tamanho na caracterização de goma de cajueiro e fracionada. In: Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria, 7., 2010, São Pedro. **Anais**. VII CBRATEC, 2010. v. 7. p. 1-6.

GOBB-NETO, L.; LOPES, M. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GOOGLE MAPS. Google Maps – **Estado da Paraíba**. Disponível em: <<https://www.google.com.br/maps/place/Paraíba/>>. Acesso em: 20 Jan. 2015.

GOWTHAMARAJAN, K. et al. Development of buccal tablets for curcumin using *Anacardium occidentale* Gum. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 4, p. 1177-1183, 2012.

GOWTHAMARAJAN, K. et al. Preliminary study of *Anacardium occidentale* gum as binder in formulation of paracetamol tablets. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom, v. 83, n. 2, p. 506–511, Jan. 2011.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – **Lavoura permanente**. 2013. Disponível em: < <http://www.ibge.gov.br/estadosat/index.php> >. Acesso em: 14 Jan. 2015.

IWALOKUN , B. A. et al. Analyses of cytotoxic and genotoxic potentials of *Loranthus micranthus* using the *Allium cepa* Test. **Journal of Biological Sciences**, Pakistan, v. 3, n. 5, p. 459-467, Mai. 2011.

KAMTCHOUING , P. et al. Protective role of *Anacardium occidentale* Extract against streptozotocin-induced diabetes in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 62, n. 2, p. 95-99, Set. 1998.

LEMES, D. M.; MARIN-MORALES, M. A. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. **Mutation Research**. V. 682, p. 71-81, 2009. DOI:10.1016/j.mrrev.2009.06.002

LEVAN, A. The effect of colchicines in root mitosis in *Allium*, **Hereditas**, v. 24, p. 471–486. 1938.

LORENTZ, R. E. **Avaliação dos efeitos tóxicos e genotóxicos do inseticida-nematicida carbofurano em *Artemia salina* e *Allium cepa* L.** 2008. 43 f. Monografia (Especialização em Gestão de Recursos Naturais) - Setor de Pós-Graduação da Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2008.

LORENZI, H; MATOS, F. J. A. **Anacardeacea: *Anacardium occidentale* L.** In _____ *Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas*. 2. ed. São Paulo: Instituto Platarum, 2002. p. 49-50.

MACHADO, A. T. **Avaliação do potencial mutagênico do efluente do terminal petroquímico Almirante soares Dutra (Osório-RS-Brasil) Através do Sistema Teste**

Allium cepa. 2013. 44 f. Monografia (Bacharelado em Biologia) – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Imbé, 2013.

MAGDOLENOVA, Z. et al. Mechanisms of genotoxicity: A review of *in vitro* and *in vivo* studies with engineered nanoparticles. **Nanotoxicology**. 2013. DOI: 10.3109/17435390.2013.773464.

MAIA-ARAÚJO, Y. L.F. et al. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, Sergipe, v. 7, n. 4, 2011.

MARQUES, M. R.; XAVIER-FILHO, J. Enzymatic and inhibitory activities of cashew tree gum exudate. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 30, n. 5, p.1431-1433, Oct. 1991.

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

MENESTRINA, J. M. et al. Similarity of monosaccharide, oligosaccharide and polysaccharide structures in gum exudate of *Anacardium occidentale*. **Phytochemistry**, Amsterdam, v. 47, n. 5, p.715-721, Mar. 1998.

MIZRAHY, S.; PEER, D. Polysaccharides as building blocks for nanotherapeutics. **Chemical Society Reviews**, United Kingdom, v. 41, n. 1, p. 2623-2640, Apr. 2012.

MONARCA, S. et al. Genotoxicity of surface water treated with different disinfectants using *in situ* plant tests. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, Hoboken, v. 41, n. 5, p. 353–359, Jun. 2003.

MOTHÉ, C. G.; RAO, M. A. Rheological behavior of aqueous dispersions of cashew gum and gum arabic: effect of concentration and blending. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 13, n. 6, p. 501–506, Nov. 1999.

MOTHÉ, C. G.; RAO, M. A. Thermal behavior of gum arabic in comparison with cashew gum. **Thermochimica Acta**, Amsterdam, v. 357, n.1, p. 9-13, Ago. 2000.

MOURA, R. E. **Síntese de nanopartículas à base de goma do cajueiro para aplicação em sistemas de liberação de fármacos**. 2009. 67 f. Dissertação (Mestrado em química) - Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2009.

OLAJIDE, O. A.; ADEROGBA, M. A.; FIEBICH, B. L. Mechanisms of anti-inflammatory property of *Anacardium occidentale* stem bark: inhibition of NF-kB and MAPK signalling in the microglia. **Journal of Ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 145, n. 1, p. 42–49, Jan. 2013.

OLIVEIRA, E. F.; PAULA, HAROLDO C. B.; PAULA, REGINA C. M. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, Amsterdam, v. 113, n. 1, p. 146-151, Jan. 2014.

OLIVEIRA, G. B. **Avaliação da genotoxicidade das águas do lençol freático sob a Universidade Federal do Rio Grande do Norte**. 2007. 32 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007.

OSMAN, M. E. et al. The Molecular characterisation of the polysaccharide gum from *acacia senegal*. **Carbohydrate Research**, United Kingdom, v 246, n. 1, p. 303-318, Ago. 1993.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e Determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, n. 2, p. 301-307, Abr. 2008.

PAULA, R. C. M.; HEATLEY, F.; BUDD, P. M. Characterization of *Anacardium occidentale* exudate polysaccharide. **Polymer International**, Índia, v. 45, n. 1, p. 27-35, Jan. 1998.

PAULA, R. C. M.; RODRIGUES, J. F. Composition and rheological properties of cashew tree gum, the exudate polysaccharide from *Anacardium occidentale* L. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom, v. 26, n. 95, p. 177-181, Jan. 1995.

PESSANHA, A. F. V. et al. Influência dos excipientes multifuncionais no desempenho dos fármacos em formas farmacêuticas. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 2, p. 136-145, Abr. 2012.

PINTO, T. J. A. et al. **Eficácia de Conservantes**. In _____ Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. São Paulo: Atheneu, 2010. p. 579-630.

PIO CORRÊA, M. (Ed.). **Dicionário de plantas Úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1926 *apud* CHAVES, M. H. et al. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 20, n. 1, p. 106-112, Jan. 2010.

PRAJAPATI, V. D. et al. Pharmaceutical applications of various natural gums, mucilages and their modified forms. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom, v. 92, n. 2, p. 1685-1699, Fev. 2013.

RANA, V. et al. Modified gums: approaches and applications in drug delivery. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom, v. 83, n. 3, p. 1031-1047, Jan. 2011.

RANDAL, R. C.; PHILLIPS, G. O; WILLIAMS, P. A. Fractionation and characterization of gum from *Acacia senegal*. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 3, n. 1, p. 65-75, Fev. 1989.

RINAUDO, M.; MILAS, M.; LOPES, L. Influence of the method of purification on some solution properties of welan gum. **Int. J. Biol. Macromol.** v. 16, n. 5, 1994.

RODRIGUES, J. F.; PAULA, R. C. M.; COSTA, S. M. O. Métodos de isolamento de gomas naturais: comparação através da goma do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.). **Polímeros Ciência e Tecnologia**, São Carlos, v. 3, n. 1, p. 31-36, Jan. 1993.

SHUKLA, R. K.; TIWARI, A. Carbohydrate polymers: applications and recent advances in delivering drugs to the colon. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom, v. 88, n. 3, p. 399–416, Abr. 2012.

SILVA, D. A. et al. Characterization of crosslinked cashew gum derivatives. **Carbohydrate Polymers**, United Kingdom, v. 66, n. 1, p. 16–26, Out. 2006.

SILVA, D. R. **Obtenção e caracterização de micropartículas utilizando goma de cajueiro**. 2013. 77 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual da Paraíba, Paraíba, 2013.

SILVA, J. G. et al. Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multiresistentes de *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 4, p. 572-577, 2007.

STREISSLE, G.; SCHWOBEL, W.; HEWLETT, G. Evaluation of antiviral compounds in cell cultures with acute or persistent virus infection. **Advanced Cell Culture**, v. 1, p. 67-90, 1981.

TORQUATO, D. S. et al. Evaluation of antimicrobial activity of cashew tree gum. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Netherlands, v. 20, n. 5, p. 505-507, Jul. 2004.

VANDERLINDE, F. A. et al. Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 437-442, Jun. 2009.

VITORINO FILHO, R. N. L. **Uso de polissacarídeo extraído do exsudato de cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) na terapêutica tópica de feridas**. 2011. 65 f. Dissertação

(Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal,
Universidade Federal do Piauí, Piauí, 2011.