



UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE-CCBS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - DCBio
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO MOLECULAR- PPBM

ADRIELLE RODRIGUES COSTA

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA, CITOTÓXICA, TOXICOLÓGICA E
CIENTOMÉTRICA DE *Anacardium occidentale* L. (CAJUEIRO)**

CRATO-CE

2020

ADRIELLE RODRIGUES COSTA

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA, CITOTÓXICA, TOXICOLÓGICA E
CIENTOMÉTRICA DE *Anacardium occidentale* L. (CAJUEIRO)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri- URCA, como requisito parcial para obtenção de Título de Mestre em Bioprospecção Molecular.

Orientadora: Prof^o. Dr. Luiz Marivando Barros

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Antonia Eliene Duarte

CRATO-CE

2020

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade Regional do Cariri – URCA
Bibliotecária: Ana Paula Saraiva de Sousa CRB: 3/1000

Costa, Adrielle Rodrigues.
C837i Investigação fitoquímica, citotóxica, toxicológica e
cientométrica de *Anacardium occidentale* L. (Cajueiro)/ Adrielle
Rodrigues Costa. – Crato – CE, 2020.
126p.; il.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri –
URCA

Orientador: Prof^o. Dr. Luiz Marivando Barros

Coorientadora: Profa. Dra. Antonia Eliene Duarte

1. Cerrado, 2. Solo, 3. Chapada do Araripe, 4. UPLC-QTOF, 5.
Câncer; I. Título

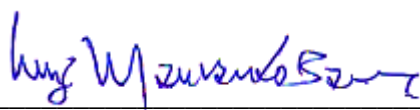
CDD: 631.4

ADRIELLE RODRIGUES COSTA

**INVESTIGAÇÃO FITOQUÍMICA, CITOTÓXICA, TOXICOLÓGICA E
CIENTOMÉTRICA DE *Anacardium occidentale* L. (CAJUEIRO)**

Dissertação apresentada e aprovada em 25 de Setembro de 2020

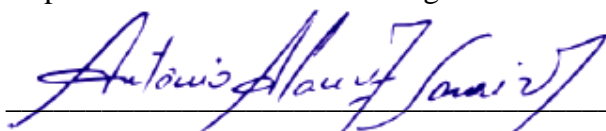
BANCA EXAMINADORA



Profº. Dr. Luiz Marivando Barros (Orientador)

Universidade Regional do Cariri – URCA

Departamento de Ciências Biológicas – DCBio



Profº. Dr. Antônio Álamo Feitosa Saraiva (Membro Interno)

Universidade Regional do Cariri- URCA



Profº. Dr. Pedro Silvino Pereira (Membro externo)

Universidade Regional do Cariri– URCA

DEDICATÓRIA

Esse trabalho é dedicado ao meu marido, aos meus pais e minha avó Lurdinha, pelo amor e constante apoio nessa caminhada em realização aos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

- Gratidão a Deus, por me conceder uma vida iluminada, repleta de realizações.
- Aos meus pais Nilton e Didi, minha irmã Gabrielle, vovó Lurdinha, tia Cicera e Wilton, pelo exemplo de pessoa que fui criada. O amor que sinto por vocês é tão grande que só pode ser presente de Deus na minha vida.
- Ao meu esposo Bruno Marcos, por me sentir a pessoa mais sortuda do mundo, pelo fato de ter alguém como você me dando amor e apoio todos os dias.
- Ao meu orientador Dr. Luiz Marivando, minha co-orientadora Dra. Antonia Eliene, Dr. Jean Paul e Dr. Pedro Silvino, por todas as oportunidades e conhecimentos que adquirir com os quatro, minha eterna gratidão e admiração.
- Aos Doutores. Edy de Sousa, Paulo Riceli, Teresinha Gonçalves, Pedro Silvino, José Galberto, Irwin Rose, João Tavares e Marcos Antonio Drumond, pela parceria e colaboração para a realização dos experimentos desta pesquisa.
- Aos meus colegas do Laboratório de Ecofisiologia (LECOV) e Biologia e Toxicologia (BIOTOX), em especial: Jailson, Thalyta, Ellayne, Larisse, Daniel, Vinicius, Nathalya, Paloma, Karol e Carol pela cumplicidade e vivência.
- Aos velhos amigos Weverton, Felicidade Caroline, Pedro, Haiele, Viviane e novos amigos que conheci ao longo desse tempo de mestrado como Natalia, Kiara, Datiane, Emily, Camila e Gleyce, obrigada pelos momentos bons que passei com vocês.
- A Universidade Regional do Cariri – URCA, minha segunda casa, onde passei ótimos momentos durante a minha caminhada de graduação e agora mestrado. Tenho orgulho de ser filho desta instituição.
- Aos programas de fomento FUNCAP, CNPQ e CAPES pela concessão de bolsas e investimentos para o auxílio da pesquisa.

♪♪ Hey, pai

Eu sei que nunca me deixou

Eu sei que sempre esteve aqui comigo

Livrando o meu coração do que não é Seu

E eu sei que todas as noites tu vens

Pra acalmar o meu coração que eu sou teu... ♪♪

(Isadora Pompeo)

A vida recomeça a cada manhã **(Joel Olsteen)**

Sumário

1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 <i>Anacardium occidentale</i> L. (família: Anacardiaceae).....	18
2.2 Estudos fitoquímicos, métodos analíticos e interações ambientais	19
2.3 Ensaio citotóxicos <i>in vitro</i> em linhagens neoplásicas.....	28
2.4 Testes toxicológicos <i>in vivo</i> em modelo <i>Drosophila melanogaster</i> e marcadores de estresse oxidativo	30
2.5 Estudos de ciometria e análise de cluster	32
3. PRODUÇÃO CIENTÍFICA	33
MANUSCRITO I - Influência de fatores abióticos na diversidade fitoquímica de <i>Anacardium occidentale</i> L.	34
MANUSCRITO II - Perfil fitoquímico do cajueiro (<i>Anacardium occidentale</i> L.) e avaliação citotóxica e toxicológica dos extratos da casca e folha	62
MANUSCRITO III - Perspectivas ciométrica e análises de visualização de <i>Anacardium occidentale</i> L. com base no banco de dados Scopus... ..	94
REFERÊNCIAS.....	116
ANEXOS	124

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

1. *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae). A: visão geral, B: folhas. Imagens tiradas em uma mancha de domínio fitogeográfico “Cerrado” em meio a Floresta Nacional do Araripe– CE, Brasil. Fonte: Costa (2019). 19
2. Vias biossintéticas que levam à produção das várias categorias de metabólitos secundários. Fonte. RICE (2012); Taiz (2017). 21
3. Estrutura molecular do ácido anacárdico (A), cardanol (B), cardol (C) e 2- metilcardol (D). Fonte: adaptado de Pubchem, 2019. 26
4. Mecanismo colorimétrico usado em testes de citotoxicidade. Fonte: adaptado de Pubchem, 2019 30

MANUSCRITO I:

1. Localização geográfica das áreas de coleta no estado do Ceará- Brasil. Área 1. Crato; Área 2. Lavras da Mangabeira..... 38
2. Correlação dos dados de precipitação nas duas cidades coletoras, Crato-CE e Lavras da Mangabeira-CE, de janeiro a maio de 2018. Jan. janeiro; Feb. Fevereiro; Mar. Março; Apr. Abril; May. Maio..... 42
3. Características granulométricas do solo Diferença entre Crato e Lavras 0-20 cm: *; Diferença entre Crato e Lavras 20-40 cm: #; Ns: não significativo..... 44
4. Porcentagem de porosidade do solo. Profundidade de 0-20 de Lavras da Mangabeira e Crato e profundidade de 20-40 respectivamente..... 44
5. Cromatogramas típicos de intensidade de pico de base (BPI) que mostram os perfis de folhas de *A. occidentale* no modo de ionização negativa nos municípios de Crato (A) e Lavras da Mangabeira (B), Ceará-Brasil..... 48
6. Cromatogramas típicos de intensidade de pico de base (BPI), mostrando os perfis de casca de *A. occidentale* no modo de ionização negativa nos municípios de Crato (A) e Lavras da Mangabeira (B), Ceará-Brasil..... 49
7. Estrutura proposta da molécula de monogaloil-glicose. Constituinte químico de galoyl contendo galotanina. Fonte: Costa, 2019 55
8. Estrutura química e nomenclatura (IUPAC) do ácido gálico (A), quercetina (B) e agatisflavona (C). Fonte: Costa, 2019..... 56

MANUSCRITO II

1. Mapa de localização da coleta de material biológico na área de conservação: Chapada do Araripe, Crato, Ceará, Brasil. Costa, 2019..... 88

2. Cromatogramas típicos de intensidade de pico de base (BPI) mostrando os perfis de folha (A) e casca (B) de <i>A. occidentale</i> no modo de ionização negativa.....	88
3. Citotoxicidade do extrato das folhas (ELAo) e cascas (EBAo) de <i>A. occidentale</i> e da Curcumina (composto padrão usado). HL-60 (leucemia promielocítica aguda); HCT-116 (câncer de colón humano); NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano); P815 (mastocistoma). * representa diferenças em relação ao grupo controle, # representa diferenças entre os extratos de folhas e cascas <i>A. occidentale</i> . ****: p <0.0001; ***: p<0.001; *: p<0.1. #####: p <0,0001; ##: p<0,01.....	90
4. Curva de mortalidade nos 7 dias de exposição, (A) extrato da casca de <i>Anacardium occidentale</i> (EBAo) e (B) extratos das folhas de <i>A. occidentale</i> (ELAo) contra <i>Drosophila melanogaster</i> . **** significa que é diferente quando comparado ao controle (p<0.0001).....	91
5. Efeito dos Extratos (A) das folhas de <i>A. occidentale</i> e (B) das cascas de <i>A. occidentale</i> na atividade locomotora (geotaxia negativa) de <i>Drosophila melanogaster</i> . **** valor estatisticamente significativos, com p<0.0001.....	91
6. Teor total de tióis protéicos (PSH) (A) e não-protéicos (NPSH) (B) em homogenatos de moscas, tratados com extrato da casca de <i>A. occidentale</i> (EBAo) e extrato das folhas de <i>A. occidentale</i> (ELAo).....	92
7. Nível de Fe ⁺² livre em homogenatos de moscas, tratados com extrato da casca de <i>A. occidentale</i> (EBAo) e extrato das folhas de <i>A. occidentale</i> (ELAo).....	93

MANUSCRITO III

1. Quantidade de trabalhos publicados ao longo de 78 anos (1941 a 2020).....	112
2. . Países de maior destaque no ranking de publicações.....	112
3. Principais Universidades que publicaram trabalhos com <i>A. occidentale</i>	113
4. Rede de autorias que publicaram durante 1941–2020 (A) e densidade (B). As cores dos autores da rede indicam agrupamentos ou colaboração identificados pelo VOSviewer...	113
5. Distribuição de áreas com maiores publicações envolvendo <i>Anacardium occidentale</i> Rede de ocorrência de citações extraídas do campo de títulos dos trabalhos publicados de 1941 a 2020. Cada círculo no mapa representa um termo que ocorreu pelo menos 20 vezes e o tamanho do círculo ou nó de um termo é proporcional ao número de ocorrência desse termo, identificados pelo VOSviewer.....	114
6. Rede de ocorrência de citações extraídas do campo de títulos dos trabalhos publicados de 1941 a 2020. Cada círculo no mapa representa um termo que ocorreu pelo menos 20 vezes e o tamanho do círculo ou nó de um termo é proporcional ao número de ocorrência desse termo, identificados pelo VOSviewer.....	115

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

1. Compostos fitoquímicos de *Anacardium occidentale*..... 23

MANUSCRITO I:

1. Análise física da densidade do solo e das partículas dos horizontes de duas áreas de coleta..... 45
2. Análise química do solo dos horizontes das duas áreas de estudo 45
3. Compostos fitoquímicos detectados e caracterizados nos extratos de *Anacardium occidentale*, no período seco coletados no horário de 13h am. Usando UPLC-DAD / QTOF-MS nos modos de ionização negativa..... 50

MANUSCRITO II:

1. Linhagens celulares utilizadas nos experimentos de citotoxicidade..... 84
2. Compostos fitoquímicos detectados e caracterizados dos extratos de *Anacardium occidentale*. ELAo (extrato da folha de *A. occidentale*), EBAo (extrato da casca de *A. occidentale*), usando UPLC-DAD / QTOF-MS nos modos de ionização negativa.. 85
3. Percentual de inibição do crescimento celular (IC%) dos extratos em linhagens tumorais e normal testados na concentração de 50 µg/mL pelo método do MTT após 72 h de incubação..... 87
4. Valores da concentração que inibe 50% do crescimento celular (IC₅₀) e o intervalo de confiança (IC 95%) das fases em linhagens tumorais testadas pelo método do MTT após 72 h de incubação..... 87

MANUSCRITO III

1. Autores mais produtivos e influentes que trabalharam com *Anacardium occidentale* entre 1941 e 2020..... 111

ABREVIACÕES

Al: Alumínio

Abr: Abril

BPI: Intensidade de pico de base

Ca: Cálcio

CAPES: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

CI₅₀: Concentração inibitória de 50%

cm: Centímetros

CNPQ: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CSV: Comma-separated values

CTC: Capacidade de troca catiônica

DAD: Detector de matriz de diodos

DMSO: Dimetil sulfóxido

DPPH: 2,2- defenil-1-picril-hidrazil

ECAo. Extratos das Cascas de *A. occidentale*

EFAo: Extratos das Folhas de *A. occidentale*

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ERN: espécies reativas de nitrogênio

EROs: espécies reativas de oxigênio

Fe²⁺: Ferro em estado ferroso

Fev: Fevereiro

FUNCAP: Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico

FUNCEME: Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos

GPS: Sistema de Posicionamento Global

GSH: Glutathione

HCDAL: Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima

HCT-116- Câncer de colón humano

HL-60- Leucemia promielocítica aguda

IF: Índice de Fator de impacto

Jan: janeiro

K: Potássio

kg/dm³: quilograma por decímetro cúbico

LC/MS: Cromatografia Líquida de Alta energia

m/z: Massa iônica
Mar: Março
Mai: Maio
Mg: Magnésio
mm: Milímetros
mM: Milimolar
MS/MS: Alta energia
MS: baixa energia
MTT: 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-brometo de tetrazolium
Na: Sódio
NCI-H292 - Carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano
NPSH: Tióis Não proteicos (SH- Grupo sulfidril)
ns: não significativo
p/v: Peso por volume
P: Fósforo
P815- Mastocistoma
Ppm: Parte por milhão
PSH: Tióis proteicos (SH- Grupo sulfidril)
 R^2 : Coeficiente de determinação
Ref: Referências
Rpm: Rotações por minuto
Rt: Tempo de retenção
SEM: Erro padrão da média
SFB: Soro fetal bovino
SISBIO: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
SISGEN: Sistema de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
SJR: Scientific Journal Rankings
TNF- α : Fator de necrose tumoral-alfa
IL-1 β : Interleucina 1 beta
UPLC/ QtoF: Cromatografia Líquida de Ultra Performance associado ao sistema Quadrupole / tempo de voo.

RESUMO

Anacardium occidentale L. (família Anacardiaceae) é uma espécie nativa do Brasil, popularmente conhecida como cajuzinho do Cerrado ou cajuí, antes classificada como *A. microcarpum*, de acordo com as classificações sistemáticas atuais, é descrita apenas como uma variação do famoso caju. Com o objetivo de entender a diversidade fitoquímica da espécie *A. occidentale* e sua atividade biológica, foi realizado neste estudo um levantamento fitoquímico de diferentes partes da planta (folhas e cascas) coletados em dois fragmentos diferentes do Cerrado Brasileiro (coletados nas cidades de "Lavras da Mangabeira" e "Crato", ambos do estado do Ceará) pela técnica de sistema Acquity UPLC (Waters), associado ao sistema Quadrupole/tempo de voo, além das análises físico-químicas dos solos. Avaliou-se ainda a citotoxicidade e marcadores oxidativos dos extratos (folha e cascas) coletados em Crato-CE, Brasil, além de uma análise cientométrica e bibliográfica avaliando a produtividade da pesquisa com a espécie vegetal. Como resultados foi possível observar diferenças na granulometria, entre as duas análises de solo (Crato e Lavras da Mangabeira). Treze compostos estavam presentes em pelo menos uma das partes vegetais: folhas ou casca, mais presentes nas duas áreas tanto em Crato como em Lavras da Mangabeira. Ambos os extratos se mostraram estatisticamente semelhanças entre os grupos. Em relação às atividades citotóxicas com diferentes linhagens celulares, apresentaram uma moderada atividade citotóxica para células cancerígenas, além de não alterar significativamente os marcadores oxidativos (tiois proteicos e não proteicos), contudo houve aumento dos níveis de Fe^{2+} em elevadas concentrações. Quanto à cientometria, o primeiro trabalho publicado se deu inicialmente em 1941, totalizando 2.030 trabalhos registrados até março de 2020, em sua maioria artigos originais e de revisão nas áreas biológicas, farmacológicas e toxicológicas, destacando o Brasil, liderando o ranking de publicações. A prospecção de produtos naturais é um estudo importante, pois a partir destes, pode-se encontrar produtos de grande valia na prática clínica. Neste contexto, o interesse na pesquisa ligada à área de produtos naturais bioativos se torna promissora, considerando a riqueza local de fontes naturais e o grande número de espécies ainda não estudadas do ponto de vista tanto fitoquímico como farmacológico.

Palavras-chave: Cerrado. Solo. Chapada do Araripe. UPLC-QTOF. Câncer.

ABSTRACT

Anacardium occidentale L. (family Anacardiaceae) is a native species from Brazil, popularly known as cashew savanna or cashew, formerly classified as *A. microcarpum*, according to current systemic classifications, it is described only as a variation of the famous cashew (fruit commercially famous). In order to understand the phytochemical diversity of the species *A. occidentale* and its biological activity, a phytochemical survey of different parts of the plant (leaves and bark) collected in two different Brazilian Cerrado fragments (collected in the cities of "Lavras da Mangabeira" and "Crato", both from the state of Ceará) by the Acquity UPLC system technique (Waters), associated with the Quadrupole/flight time system, in addition to the physicochemical analyzes of the soils. The cytotoxicity and oxidative markers of extracts (leaf and bark) collected in Crato-CE, Brazil were also evaluated, in addition to a scientometric and bibliographic analysis evaluating the research productivity with the plant species. As a result it was possible to observe differences between the two soil analyzes, such as the granulometry. Thirteen compounds were present in at least one of the vegetable parts: leaves or bark, most present in both Crato and Lavras da Mangabeira. Both extracts showed statistically similarities between the groups. Regarding the cytotoxic activities with different cell lines, both extracts showed a moderate cytotoxic activity for cancer cells, besides not significantly altering the oxidative markers (protein and non-protein thiol), however there was an increase in Fe^{2+} levels at high concentrations. As for scientometrics, the first work published was initially in 1941, totaling 2,030 works registered until March 2020, mostly original and review articles in the biological, pharmacological and toxicological areas, highlighting Brazil, leading the ranking of publications. The prospecting of natural products is an important study, because from these, you can find products of great value in clinical practice. In this context, the interest in research related to the bioactive natural products area is promising, considering the local richness of natural sources and the large number of species not yet studied from the phytochemical and pharmacological point of view.

Keywords chevy: Cerrado. Ground. Chapada do Araripe. UPLC-QTOF. Cancer.

1. INTRODUÇÃO

O uso de compostos químicos de origem vegetal sempre teve relevância para as populações tradicionais que os utilizam para fins medicinais, uma vez que essa prática é tão antiga quanto a espécie humana (MACIEL *et al.*, 2002; BARROS *et al.*, 2013), esses compostos muitas vezes encontrados nas formas de chás (decoção e infusão), extratos e óleos essenciais, vem crescendo significativamente nos últimos tempos, ganhando destaque pela pesquisa científica envolvendo indústrias de cosméticos, perfumarias, farmacêuticas, dentre outras, destacando sua importância econômica no mercado (ZOUARI, 2013; CUNHA *et al.*, 2015).

No entanto, plantas que ocorrem em diferentes condições ambientais apresentam variação qualitativa e quantitativa de seus metabólitos secundários, tidos como responsáveis pelas suas atividades biológicas, além disso, fatores fisiológicos podem alterar a síntese desses compostos, dependendo das condições que o vegetal esteja exposto, como: composição físico-química do solo, pluviometria, luminosidade, exposição direta aos raios UV, fenologia, sazonalidade, dentre outros fatores abióticos, são responsáveis pela mudança na produção de seus constituintes (SANTOS *et al.*, 2009; DUARTE *et al.*, 2010; BARBOSA-FILHO *et al.*, 2014). Pesquisas afirmam que condições adversas contribuem significativamente para o aumento ou diminuição da produção de um determinado composto, dependendo da sua necessidade (DUARTE *et al.*, 2010).

Contudo, os metabólitos secundários que tem outras funcionalidades para os vegetais que os produzem em termos de adaptações de um modo geral, apresentam inúmeras propriedades biológicas de alta relevância para o homem (PEREIRA; CARDOSO, 2012; SIMÕES *et al.*, 2016; DUARTE *et al.*, 2016; COSTA *et al.*, 2017). Um acúmulo de evidências indica que compostos de origem vegetal podem ser promissores no controle de radicais livres, carcinogenicidade e genotoxicidade de relevância para a pesquisa (WACZUK *et al.*, 2015; MUBASHAR *et al.*, 2015).

Neste contexto, pesquisadores em todo mundo tem se empenhado na busca de novos fármacos com propriedades carcinogênicas, considerados uma alternativa viável e promissora (WACZUK *et al.*, 2015). Visto que, concomitante ao aumento de radicais

livres, conseqüentemente um aumento considerável de danos ao genoma humano pode ser apresentado, contribuindo para o surgimento da doença (HUA *et al.*, 2014), que é considerado atualmente um grande problema de saúde pública à nível global (INCA, 2013; WHO, 2008), caracterizada pelo crescimento desordenado de células que desencadeiam uma proliferação progressiva e resistência à morte celular por possuírem defeitos nos mecanismos que governam à proliferação celular normal (KENNY *et al.*, 2007). Entretanto, um fator importante na busca de novas moléculas bioativas no tratamento contra o câncer é a seletividade para as células tumorais (LUZ *et al.*, 2018).

Assim, para neutralizar os efeitos negativos ocasionados as células normais, têm sido dadas considerável atenção à procura de substâncias naturais que mimetizem danos as células normais (PAPATRIANTAFYLLOU, 2012), sem ocasionar genotoxicidade nem desencadear marcadores oxidativos. Ensaio toxicológicos e citotóxicos de produtos vegetais são altamente recomendados, uma vez que faz parte dos procedimentos que contribuem para a padronização de produtos fitofarmacêuticos (ANANTHA, 2013; CHOODHARY, 2011). Ensaio desta natureza são realizados em dois métodos *in vivo* e *in vitro*, sendo que os testes *in vitro* são mais recomendados por serem mais fáceis de manuseio, economicamente mais viáveis e apresentam melhores reprodutibilidades (BEDNARCZUK *et al.*, 2010).

Os métodos toxicológicos *in vivo* com alternativas viáveis, também apresentam uma série de vantagens como fácil manuseio e boa precisão dos resultados. Alternativas estas que possam substituir espécies de mamíferos em testes são altamente recomendadas por agências governamentais nacionais e internacionais (ADEDARA, 2015). Por sua vez à *Drosophila melanogaster*, é muito relatada como organismo modelo proeminente em estudos de câncer, parâmetros bioquímicos e doenças neurodegenerativas (PANCHAL; TIWARI, 2017). Isso porque tem a capacidade de minimizar alterações observadas em modelos animais de testes convencionais (CARRAZONI, *et al.*, 2016; ADEDARA *et al.*, 2015; RAND, 2010). Fornecendo um excelente sistema modelo para avaliação experimental de possíveis substâncias com propriedades bioativas na cura de determinadas afecções (PANDEY; NICHOLS 2011).

Desta forma, a espécie *Anacardium occidentale* L. (Família: Anacardiaceae), destaca-se como vegetal de grande valia na medicina popular e científica, popularmente conhecida como cajuí ou cajuzinho do Cerrado, antes classificado como *A. microcarpum* e atualmente de acordo com as classificações sistemáticas apenas uma variação do famoso caju (FLORA BRASIL, 2019), um vegetal de grande importância comercial, isso porque além da medicina tradicional é utilizado na alimentação, consumido na forma de sucos e doces (BARBOSA-FILHO, 2015; 2014; RIBEIRO *et al.*, 2014). Segundo as descrições morfológicas do cajuzinho, suas folhas são coriáceas, pecíolo mais achatado, nervura mais espessa, inflorescência menos densa, fruto menor e pedúnculo vermelho ou amarelo fortemente ácido não mais longo que a fruta (VIEIRA, 2014). Neste sentido, pretende-se com essa pesquisa contribuir com o conhecimento químico e biológico de *A. occidentale*.

Além dos estudos anteriores mencionados, levantamentos cientométricos e bibliográficos são relevantes para dar suporte à pesquisa. Uma vez que, a cientometria ou bibliometria é classificada como um ramo da ciência que estuda a mensuração do progresso da ciência em análises quantitativas, em termos científicos e tecnológicos (SILVA *et al.*, 2001a), com estes meios são possíveis construir indicadores para avaliar como está a produção científica em determinadas áreas de conhecimento (SILVA *et al.*, 2011b), ou espécie vegetal, neste caso a espécie *A. occidentale*.

Neste estudo, hipotetizamos que *A. occidentale* pode apresentar diferenças significativas na composição fitoquímica, assim como apresentar atividade citotóxica de relevância com células cancerígenas, não apresentando toxicidade para células normais. Desta forma, este trabalho teve como objetivo desenvolver um estudo sobre a variação fitoquímica dos extratos da espécie, pela técnica de UPLC-QTOF, assim como avaliar a composição físico-química dos solos. Foi testado também a citotoxicidade desses extratos com linhagens de células neoplásicas e saudáveis, e a toxicidade sobre *Drosophila melanogaster* avaliando a mortalidade, geotaxia negativa e marcadores bioquímicos. Além de Gerar análises de visualização cientométrica e bibliográfica sobre estudos científicos com a espécie *A. occidentale*.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Anacardium occidentale* L. (família: Anacardiaceae)

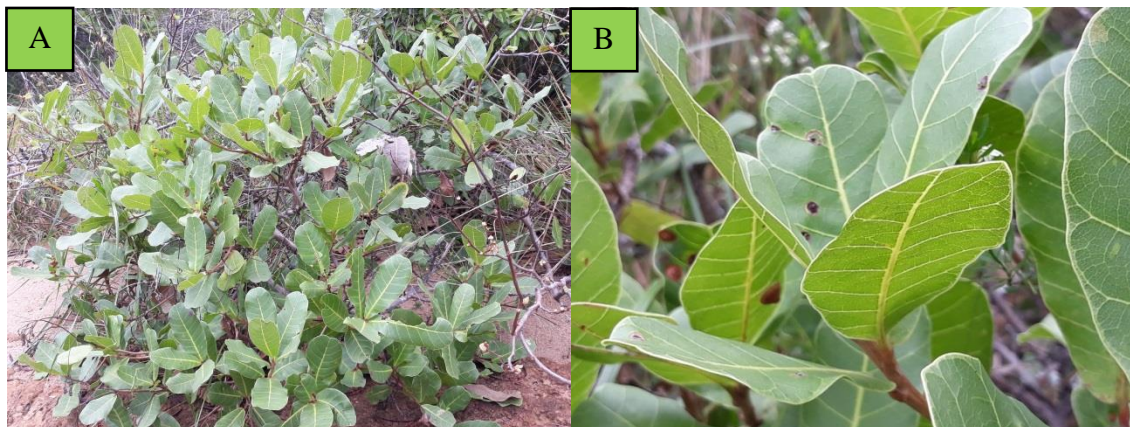
Anacardiaceae é uma família vegetal que abrange cerca de 77 gêneros, com 2.935 nomes científicos, dos quais, apenas 701 nomes são aceites como nome de espécies (LUZ *et al.*, 2019). Muitas dessas espécies apresentam toxicidade e são causadores de dermatites de contato (CORREIRA *et al.*, 2006). De modo geral, as espécies venenosas desta família estão restritas principalmente ao gênero *Anacardieae*, *Rhoeae* e *Semecarpeae* (VOGL; METGHELL, 1996). Essa toxicidade, assim como, inúmeras atividades biológicas, apresentadas pelos vegetais, podem ser atribuídas aos compostos químicos presentes nos vegetais como, por exemplo, os compostos fenólicos e catecólicos ou a mistura dessas substâncias, citamos como exemplo, a interação em extratos vegetais (CORREIA *et al.*, 2006). Quanto ao gênero *Anacardium*, atualmente 38 nomes científicos constam-se registrados, destacando a espécie *A. occidentale* como a mais conhecida do gênero (LUZ *et al.*, 2019).

Anacardium occidentale (Figura 1) é uma espécie nativa do continente Americano, com ampla faixa de distribuição no nordeste brasileiro, popularmente conhecida como cajueiro, derivado da palavra indígena “acaiú”, de origem tupi guarani, que quer dizer “noz que se produz” (SALEHI *et al.*, 2019). Os indivíduos constituem árvores de médio porte, podendo chegar a 10 m de altura, são resistentes à seca, com pH ideal entre 4,5 e 6,5, com adaptações em solos pedregosos, arenosos, argilosos e pesados, solos típicos do domínio fitogeográfico “Cerrado”. Estes solos são caracterizados por apresentar uma alta acidez, com nutrientes essenciais para o desenvolvimento destes vegetais (LOPES; COX, 1977).

Os frutos dessa espécie são ricos em nutrientes essenciais ao nosso corpo, como vitamina C, açúcares, minerais (cálcio, ferro e fósforo) e compostos fenólicos aos quais apresentam alto valor em termos de atividades biológicas (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2014). O fruto e pseudofruto de *A. occidentale* tem grande relevância no mercado econômico mundial, isso porque é consumida mundialmente no setor alimentício. Suas folhas e cascas são utilizadas na medicina tradicional na forma de chás (Infusão e

Investigação fitoquímica, citotóxica, toxicológica e cientométrica de *Anacardium occidentale* L. (Cajueiro)

decocção), com uma variedade de funções terapêuticas, incluindo doenças infecciosas, inflamação, reumatismo e tumores (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2015; RIBEIRO *et al.*, 2014).



Fonte: Costa (2019).

Figura 1. *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae). A) Aspecto geral em uma mancha de domínio fitogeográfico “Cerrado” em meio a Floresta Nacional do Araripe– CE, Brasil. B) folhas.

Quanto ao seu potencial comprovado cientificamente alguns relatos descrevem sua atividade microbiológica, pela ação de interagir com a camada lipídica da membrana externa das bactérias ou com suas proteínas (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2015), antioxidante, por se apresentar como bom no sequestro de radicais livres (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2014; TAN *et al.*, 2014), anti-inflamatória e antinociceptiva por demonstrar eficácia na inibição da liberação de TNF- α e IL-1 β em células estimuladas por LPS (SOUZA *et al.*, 2017) e atividade anticancerígena por demonstrar inibição significativa no crescimento tumoral por causar perda de viabilidade celular (BARROS *et al.*, 2020). Estas e outras atividades biológicas e farmacológicas dos vegetais estão diretamente relacionadas à natureza química de seus compostos secundários, também conhecidos como fitoquímicos.

2.2 Estudos Fitoquímicos, Métodos Analíticos e Interações Ambientais

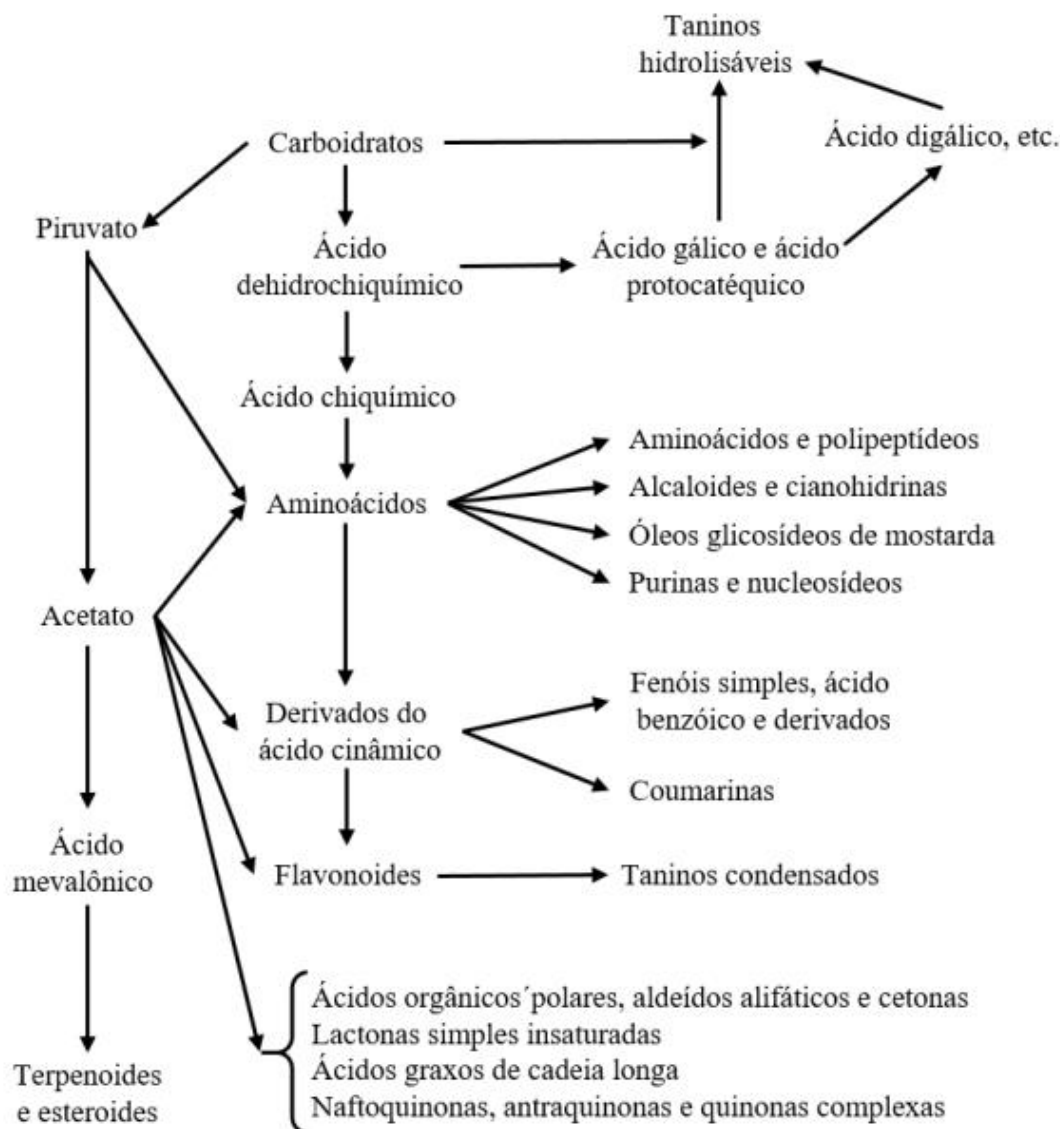
A fitoquímica é a área responsável pelo estudo dos princípios ativos de drogas vegetais, conhecidas como metabólitos secundários (TAIZ, ZEIGER, 2017). As plantas

produzem uma larga e diversa ordem de componentes orgânicos, produzidos a partir do metabolismo primário, os mesmos não possuem relação direta com crescimento e desenvolvimento vegetal, e sim características evolutivas fundamentais para adaptação ao meio (TAIZ, ZEIGER, 2017; GALVÃO *et al.*, 2018), uma vez que são essenciais para proteção contra o ataque de insetos e herbívoros, contra a radiação ultravioleta, proteção contra doenças, além de contribuir com a dispersão e sobrevivência da planta sobre determinadas condições ambientais.

Estes fitoquímicos são produzidos por vias secundárias para suprir as necessidades dos vegetais (BARBOSA *et al.*, 2012; SIMÕES, 2016). Em suma, a via que dá origem aos compostos fitoquímicos pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais: o ácido chiquímico e o acetato-maloaldeído (Figura 2), ou até mesmo uma combinação dessas rotas biossintéticas (RICE, 2012). Estes compostos podem ser encontrados em diversas partes da planta (SODAEIZADEHA *et al.*, 2011). Havendo vários meios de extraí-los e identificá-los (PEREIRA e CARDOSO, 2012).

Inúmeras técnicas cromatográficas têm sido abordadas para estudos de caracterização química. Neste estudo, destacamos a cromatografia líquida de alta eficiência, que apresenta vários benefícios nas análises fitoquímicas, além da ultrafiltração por bioafinidade acoplada a cromatografia líquida baseada em espectrometria de massa (LC-MS), que é um método que vêm crescendo nos últimos anos, devido ser amplamente utilizada em triagem de alto desempenho nos processos que facilitem a separação e identificação de compostos químicos em produtos de origem vegetal (NING *et al.*, 2019).

A Cromatografia Líquida de Ultra Performance (CLUP/UPLC) é uma técnica recente na pesquisa científica relativamente diferente da tradicional Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC), principalmente pelo tamanho de partículas da fase estacionária (JASTREBOVA *et al.*, 2011), proporcionando maior eficiência de pico (largura do pico), boa separação, alta sensibilidade, rendimento da amostra e redução do tempo de análise (JASTREBOVA *et al.*, 2011; HEINISCH *et al.*, 2009).



Fonte: Rice (2012); Taiz (2017)

Figura 2. Vias biossintéticas que levam à produção das várias categorias de metabólitos secundários.

Esta técnica permite a identificação de diferentes classes de compostos orgânicos, dos quais se diferem pelas estruturas químicas e propriedades. Eles podem ser classificados em ácidos orgânicos solúveis em água, álcoois de cadeia linear, aldeídos alifáticos e cetonas, lactonas simples insaturadas, ácidos graxos de cadeia longa e poliactilenos, quinonas (benzoquinona, antraquinona e quininas complexas), compostos fenólicos e seus derivados, e terpenoides (TAIZ; ZEIGER, 2017; BUCHANAN *et al.*, 2015).

A produção dos metabólitos secundários está diretamente relacionada com as interações ambientais e fatores fisiológicos, apresentando variação qualitativa e quantitativa de seus fitoquímicos (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2012). Fatores como: fenologia, sazonalidade, taxas pluviométricas, composição do solo, luminosidades, exposição direta aos raios UV, dentre outros fatores abióticos, são diretamente responsáveis pela mudança na produção de seus constituintes (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2013; DUARTE *et al.*, 2010).

Pesquisas afirmam que condições adversas contribuem significativamente para o aumento ou diminuição da produção de um determinado composto, dependendo das suas necessidades (TAIZ; ZEIGER, 2014). Um fator diretamente relacionado é a disponibilidade de nutrientes essenciais para o desenvolvimento dos vegetais retirados do solo.

2.2.1 Classes de Compostos Fitoquímicos de *Anacardium occidentale*

De acordo com Correia *et al.* (2006), duas classes se destacam por ser características da família *Anacardiaceae*, flavonoides (especialmente biflavonoides) e lipídios fenólicos, encontrados em espécies que normalmente apresentam propriedades tóxicas ou alergênicas.

Os flavonoides apresentam uma estrutura química que se resume em apresentar pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Além das funções biológicas, esses compostos possuem elevada importância como matéria-prima industrial e medicinal (MUBOFU *et al.*, 2018).

Como demonstrado na Tabela 1, inúmeras classes de compostos foram registrados para *A. occidentale*, muitas vezes estes se repetem nos trabalhos, com pequenas variações quantitativas, destacando-se como principais classes: flavonas, flavonoides, chalconas, xantonas, alcaloides, flavanonas, auronas e pirogalatos de tanino (BARBOSA-FILHO *et al.*, 2015).

Tabela 1. Compostos fitoquímicos de *Anacardium occidentale*.

COMPOSTO	FÓRMULA	PARTES	MATERIAL	REFERÊNCIA
Compostos fenólicos				
Ácidos benzoicos				
Ácido gálico	C ₇ H ₆ O ₅	Cascas frescas e folhas	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etil e em extrato hidroetanólico de folhas	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018;
Ácido elágico	C ₁₄ H ₆ O ₈	Cascas frescas, suco de maçã de caju	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Vilar <i>et al.</i> , 2016; Martins, <i>et al.</i> , 2018; Queiroz <i>et al.</i> , 2011
2-hydroxy-6-pentadecylbenzoic acid	C ₂₁ H ₃₄ O ₄	Folhas, pedúnculo e castanha	Extrato hidroetanólico	Tedong <i>et al.</i> , 2010; Assunção <i>et al.</i> , 2003
2,6-dihydroxybenzoic acid	C ₇ H ₆ O ₄	Castanha	Líquido da castanha	Assunção <i>et al.</i> , 2003
5-hidroximetilfurfural ácido cinâmico ácido	C ₉ H ₈ O ₂	Pseudofruto	Suco de caju	Queiroz <i>et al.</i> , 2011
Ácido fenólico				
Ácido clorogênico	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Cascas frescas	Extrato hidroalcoólico e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018

Tabela 1. Compostos fitoquímicos de *Anacardium occidentale*. (cont)

Ácido salicílico	C ₇ H ₆ O ₃	Castanha	Extrato hidroetanólico	Tedong <i>et al.</i> , 2010
Acido anacárdico	C ₂₂ H ₃₀ O ₃	Líquido de casca da castanha de caju, semente de caju	Extrato hidroetanólico; óleo chamado líquido de casca de castanha de caju	Tedong <i>et al.</i> , 2010; Stasiuk <i>et al.</i> , 2014; Mubofu <i>et al.</i> , 2002;
Ácidos cinâmicos				
Ácido cafeico	C ₉ H ₈ O ₄	Cascas frescas	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018
Ácidos hidroxicinâmicos				
Ácido ferulico	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	Pseudofruto	Suco do pseudofruto	Ange <i>et al.</i> , 2012
Flavonoides				
Flavanóis				
Catechina	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	Cascas frescas	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018
Cyaniding peonidin	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	Líquido de casca de castanha de caju	Líquido da castanha	Paramashivappa <i>et al.</i> , 2001

Tabela 1. Compostos fitoquímicos de *Anacardium occidentale*. (cont)

Epicatequina	$C_{15}H_{14}O_6$	Cascas frescas	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018
Isoquercetina (Quercetina 3-O-glucosídeo)	$C_{21}H_{20}O_{12}$	Cascas frescas; germoplasma	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila; Extrato de brotos	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018; Mohd Shukri & Alan, 2010
Quercetina	$C_{15}H_{10}O_7$	Cascas frescas	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018
Quercetina 3-O-galactosídeo		Folhas jovens	Extratos de brotos	Mohd Shukri e Alan, 2010
Quercetin-3-O-xyloside	$C_{20}H_{18}O_{11}$	Folhas jovens	Extrato das folhas	Mohd e Alan, 2010
Quercetin	$C_{15}H_{10}O_7$	Cascas frescas	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018
Kaempferol	$C_{15}H_{10}O_6$	Cascas frescas	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018
Kampferol glycoside	$C_{21}H_{20}O_{11}$	Cascas frescas	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018

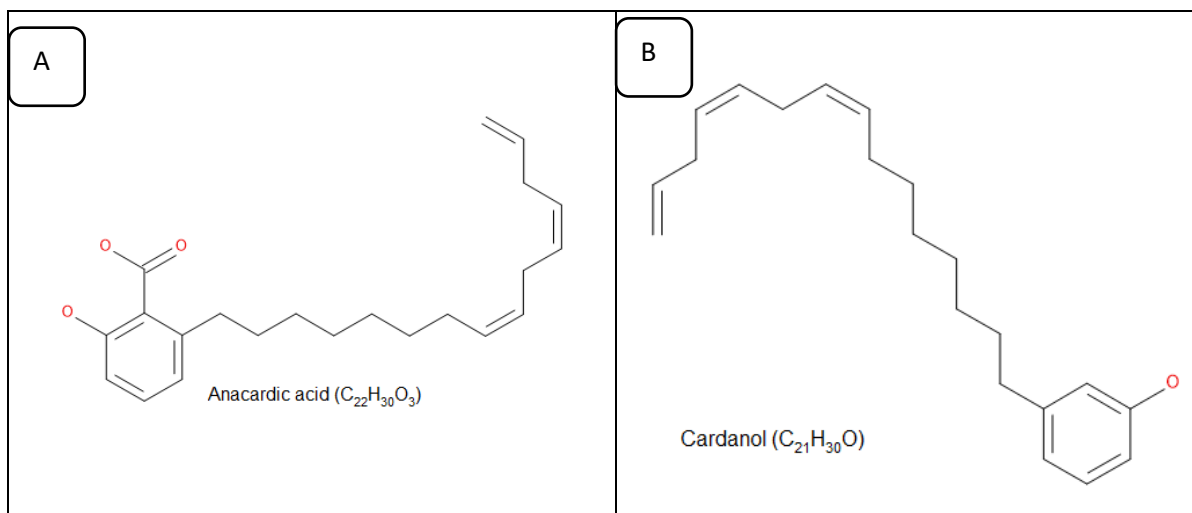
Tabela 1. Compostos fitoquímicos de *Anacardium occidentale*. (cont)

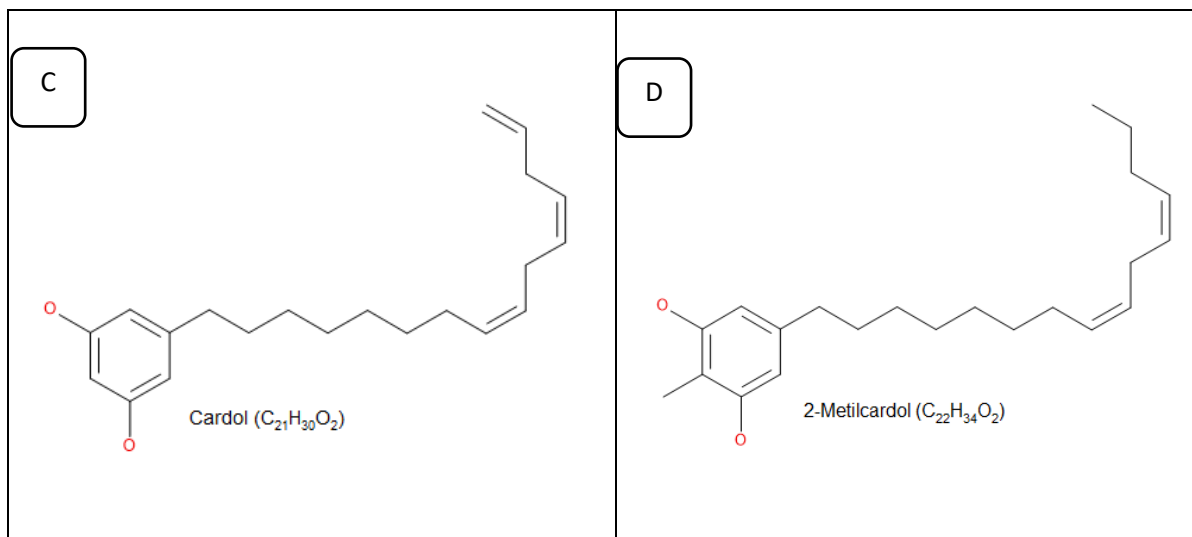
Kaempferol-3-O-arabinofuranoside	$C_{26}H_{28}O_{14}$	Folhas	Extrato	Mohd <i>et al.</i> , 2010
Kaempferol-3-O-xyloside		young tender leave	Extrato das folhas	Mohd e Alan 2010
Kaempferol 3-O-arabinofuranosídeo	$C_{26}H_{28}O_{14}$	Germoplasma	Extratos de brotos	Mohd Shukri & Alan, 2010
Kaempferol 3-O-glucosídeo	$C_{21}H_{20}O_{11}$	Germoplasma	Extratos de brotos	Mohd Shukri & Alan, 2010
(+)- catequina	$C_{15}H_{14}O_6$	Castanha, fruto e casca	Extrato e suco da fruta	Trox <i>et al.</i> , 2011; Vilar <i>et al.</i> , 2016
Naringenina	$C_{15}H_{12}O_5$	Pseudofruto	Suco do pseudofruto	Ange <i>et al.</i> , 2012
Bioflavonoide				
Rutina	$C_{27}H_{30}O_{16}$	Cascas frescas	Extrato hidroalcoólico, fração metanólica e acetato de etila	Barbosa-Filho <i>et al.</i> , 2014; Martins, <i>et al.</i> , 2018
Alquil fenóis				
Cardanol	$C_{21}H_{30}O$	Líquido de casca da castanha de caju, semente de caju	Extrato hidroetanólico; óleo chamado líquido de casca de castanha de caju	Tedong <i>et al.</i> , 2010

Os flavonoides são a classe mais estudada na pesquisa científica, isto porque, apresentam atividades biológicas de grandes aplicações nas indústrias farmacêuticas, devido às propriedades farmacológicas de relevância. Os compostos fenólicos (subclasse dos flavonoides) apresentam uma diversidade de atividades biológicas, como, por exemplo, o ácido cafeico e ácido clorogênico que apresentam atividades anti-inflamatórias, imunomoduladoras e microbiológica de relevância (CHOI *et al.*, 2015; PRASAD *et al.*, 2011).

O ácido clorogênico é descrito como o éster do ácido cafeico e ácido químico e a absorção desses ácidos podem levar a efeitos biológicos na circulação sanguínea (SATO *et al.*, 2011). Já a quercetina e ácido gálico apresentam consideráveis relatos quanto ao seu potencial farmacológico.

Os principais componentes do líquido da castanha do caju se destaca com altos teores de ácido anacárdico geralmente com 60 a 70% (Figura 3a), cardol com 20 a 25% (Figura 3b), cardanol com 10% (Figura 3c) e pequenas quantidades de 2-metilcardol (Figura 3d) (LOPEZ *et al.*, 2012; PARAMSHIVAPPA *et al.*, 2001).





Fonte: adaptado de Pubchem, 2019.

Figura 3. Estrutura molecular do ácido anacárdico (A), cardanol (B), cardol (C) e 2- metilcardol (D). Costa, 2019.

O ácido anacárdico classificado como um ácido fenólico é citado na literatura como composto majoritário de *A. occidentale*, isso porque em muitas análises sempre se apresenta em maiores porcentagens (TEDONG *et al.*, 2010), apresentando um grau de instauração de mais de 90% em sua cadeia lateral C₁₅, ainda que em menor proporção pode conferir irritabilidade em contato com a pele e mucosas. É importante ressaltar que monômeros deste ácido é precursor acrilato, anacardanil e macrilado de anacardanil (CAMPOS *et al.*, 2017). A descarboxilação através do aquecimento do ácido anacárdico dá origem ao cardanol e cardol. O cardanol e o cardol são os principais componentes depois do ácido anacárdico. Eles apresentam uma estrutura semelhante à do ácido anacárdico, por ter uma segunda hidroxila no anel aromático por serem separados por destilação sob pressão reduzida (ca. 10 mmHg), (LOPEZ *et al.*, 2012). Esses dois compostos possuem diversas aplicações na ciência farmacêutica e biológica, tais como atividade antioxidante, larvicida e antibacteriana (OSMARI *et al.*, 2015; ANDRADE *et al.*, 2011).

2.3 Ensaios Citotóxicos *in vitro* em Linhagens Neoplásicas

Células neoplásicas são aquelas células normais que, por alguns mecanismos tiveram seu código genético alterado, ocasionando defeitos no ciclo mitótico, e

consequentemente desencadeando uma série de alterações morfológicas, fisiológicas e genéticas, se tornando células mutagênicas, se multiplicando desordenadamente (LUZ *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2018) e este crescimento desordenado de células dão origem aos tumores, considerados como doenças complexas.

A descoberta mais antiga sobre câncer transcorreu no Egito há aproximadamente 1600 a.C., com os primeiros casos de tumores de mama (MERICAN CANCER SOCIETY, 2015). A partir daí, o número de casos aumentou consideravelmente, e hoje é um dos principais problemas de saúde pública no mundo, a sua forma maligna é considerada a segunda causa de morte entre as doenças não-transmissíveis (INCA, 2016). Dentre os mais incidentes, destaca-se o câncer de pulmão (principal causa de morte), câncer de mama, cólon, reto e próstata (BRAY *et al.*, 2018; BRAY *et al.* 2014, ISLAMI *et al.*, 2018; INCA 2013).

Vários fatores exógenos e endógenos estão diretamente relacionados ao aparecimento de câncer. Tais como: os hábitos alimentares, estilo de vida, agentes físicos, químicos e biológicos (INCA, 2016).

Os estudos desta natureza têm esclarecido muitos aspectos da biologia molecular, desde substâncias promissoras na redução da taxa de viabilidade celular, quanto aos mecanismos envolvidos no ciclo celular normal e de suas alterações no câncer (LUZ *et al.*, 2018). Ensaios citotóxicos *in vitro* são altamente recomendados, uma vez que fazem parte dos procedimentos que contribuem para a padronização de substâncias, visto que são mais fáceis de manuseio, economicamente viáveis e apresentam melhores reprodutibilidades (BEDNARCZUK *et al.*, 2010).

Geralmente, os ensaios citotóxicos *in vitro* são realizados através de vários métodos colorimétricos quantitativos, dentre os quais se destaca o MTT, desenvolvido por Tim Mosmann em 1983. Neste ensaio ocorre um processo de conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-brometo de tetrazoluim (MTT) em cristais de formazan (*N*-anilino-*N*-[(4,5-dimethyl-1,3-thiazol-2-yl) imino] benzenecarboximidamide), pela atividade da enzima mitocondrial succinato desidrogenase (Figura 4), processo este que somente ocorre em células viáveis.

genes são causadores de doenças em humanos, incluindo genes cancerígenos (PANDEY; NICHOLS, 2011; NARAYANAN; ROTHENFLUH, 2016). Demonstrando um excelente modelo para o estudo da genética e biologia celular, com vantagens distintas para as investigações toxicológicas (PAMPA *et al.*, 2011), por diferentes métodos, incluindo os marcadores de estresse oxidativo.

O estresse oxidativo é caracterizado pelo desequilíbrio entre o excesso de EROs (Espécies Reativas de Oxigênio) e os agentes de defesa como as enzimas antioxidantes e defesas não-enzimáticas, e estas espécies reativas podem ocasionar sérios danos ao nível molecular, levando a danos celulares até mesmo a morte celular (BARREIROS; DAVID, 2006).

Um estresse oxidativo moderado, frequentemente é acompanhado do aumento das defesas antioxidantes. No entanto, muitas vezes isto não acontece, pois quando as células estão expostas a um estresse severo, a produção de espécies reativas pode exceder a sua capacidade de neutralização dos sistemas de proteção antioxidante (KANG; SALTVEIT, 2002) e a toxicidade oxidativa pode ocorrer.

Marcadores oxidativos como o excesso de Fe^{2+} livre e Glutathione (GSH) são considerados indicativos de toxicidade induzida por radicais livres. De acordo com alguns pesquisadores, um alto nível de íons Fe^{2+} livre e GSH foram detectados em várias doenças, inclusive no câncer (SANG *et al.*, 2019; DIXON, *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2018).

A Glutathione é uma molécula formada por três aminoácidos: cisteína, glicina e ácido glutâmico. Considerada o tiol não proteico mais importante nos sistemas antioxidante celular (BARBOSA *et al.*, 2010).

Por sua vez o Fe^{2+} livre é um mineral vital para a homeostase celular. Sendo indispensável na forma de hemoproteína, fundamental para o transporte de oxigênio, o ferro no organismo apresenta um equilíbrio entre os processos de absorção do ferro, reciclagem, mobilização, utilização e armazenamento. Alterações no sincronismo desses processos podem causar tanto a deficiência como a sobrecarga de ferro, ambos com importantes repercussões clínicas para o aparecimento de enfermidades (GROTTO, 2010).

2.5 Estudos de Cientometria e Análise de Cluster

A cientometria é um ramo da ciência que avalia o desempenho da produção científica em número de artigos publicados de forma quantitativa e qualitativa (WALTMAN *et al.*, 2016; BONILLA *et al.*, 2015; LOZANO *et al.*, 2012; ELKINS *et al.*, 2010). Por se tratar de informações de estudo da ciência, a cientometria tem um papel importante na análise das produções científicas de um país, uma vez que relata o nível de desenvolvimento da pesquisa de uma determinada área ou de áreas em geral (KRAUSKOPF, 2018; BALADI; UMEDANI, 2017).

Ao longo dos últimos anos, vem sendo uma ferramenta de destaque para estudos de revisão (MONGEON *et al.*, 2016; GAZNI *et al.*, 2011), avaliando o índice de produção científica por métodos estatísticos (KAMDEM *et al.*, 2016).

3 PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Com esta pesquisa foi possível à identificação da variação fitoquímica da espécie *A. occidentale* sobre condições ecológicas diferentes, dados do Manuscrito I. Observando-se pequena variação na composição química entre as áreas de coleta, escolheu-se apenas uma das áreas para os estudos da atividade biológica, resultados do Manuscrito II, avaliando a citotoxicidade e marcadores oxidativos de dois diferentes extratos da área de Crato-CE. Enquanto que o manuscrito III é um estudo bibliográfico e cientométrico da espécie *A. occidentale*, avaliando-se o progresso da pesquisa científica ao longo dos anos com este vegetal.

MANUSCRITO I

INFLUENCE OF ABIOTIC FACTORS ON PHYTOCHEMICAL DIVERSITY OF
Anacardium occidentale L.

INFLUÊNCIA DE FATORES ABIÓTICOS NA DIVERSIDADE FITOQUÍMICA DE
Anacardium occidentale L.

A seguir o manuscrito redigido segundo as normas estruturais e bibliográficas do
periódico **Journal of Chromatography B**

Fator de impacto: 2.729

Qualis: B1 em Biodiversidade

INFLUÊNCIA DE FATORES ABIÓTICOS NA DIVERSIDADE FITOQUÍMICA DE *Anacardium occidentale* L.

Destaques

- A coleta foi realizada em dois fragmentos do Cerrado brasileiro: na Chapada do Araripe e na Serra do Boqueirão.
- Foi possível observar diferenças entre a granulometria das duas áreas.
- Uma correlação positiva e forte foi observada entre as chuvas no local de Lavras da Mangabeira e Crato.
- O ácido gálico é um fragmento típico importante na formação de inúmeros compostos.
- Estes estudos são relevantes para avaliar as influências ambientais na produção de metabólitos secundários.

Resumo

A espécie *Anacardium occidentale* conhecida popularmente como “cajuzinho do Cerrado”, se destaca com grande abundância no domínio morfoclimático e fitogeográfico “Cerrado”, inserida na família botânica Anacardiaceae. A espécie foi submetida à cromatografia líquida de ultra eficiência, a fim de compreender a diversidade metabólica dos compostos químicos presentes nos extratos das folhas e entrecasca de duas áreas geográficas distintas em Crato-CE e Lavras da Mangabeira- CE, caracterizadas como manchas de Cerrado em meio ao domínio Caatinga, além das análises físico-químicas dos solos. Diferenças foram determinadas entre a granulometria dos dois habitats estudados, destacando-se como arenoso na sua textura, com grandes valores de areia total, apresentando pH ácido (<5,0), e variação nas taxas de porosidade. Em termos nutritivos os macronutrientes com maior acúmulo, no solo de Lavras da Mangabeira foram P>Al>Mg>Na>K>Ca no município de Crato P>Al>Mg>K>Na>Ca em ordem crescente, destacando a predominância de P (Fósforo) e Al (Alumínio) principalmente na camada de 20-40 cm. A cromatografia líquida de ultra performance, combinada ao método de espectrometria de massa de voo

quadrupolar (UPLC-qTOF-MS/MS), permitiu a identificação de 33 compostos, dos quais, 28 compostos estavam presentes nas folhas e 20 no extrato da entrecasca. Deste total, 13 estavam presentes em pelo menos uma das partes vegetais: folhas ou entrecasca, mais presentes nas duas áreas tanto em Crato como em Lavras da Mangabeira. Ambos os extratos se mostraram estatisticamente semelhanças entre os grupos. Estudos desta natureza são relevantes para avaliar as influências ambientais sobre a produção química secundária.

Palavras chaves: Cromatografia. Anacardiaceae. Cajueiro. UPLC-QTOF. Solo

1. INTRODUÇÃO

Anacardium occidentale L. (família Anacardiaceae) é uma espécie nativa do Brasil, popularmente conhecida como cajuzinho do Cerrado ou cajueiro (Vieira *et al.*, 2014; Barbosa-Filho *et al.*, 2015). É abundantemente encontrado nos domínios morfoclimáticos e fitogeográficos "Cerrado", com árvores frondosas que podem atingir 1,80 a 2 m de altura, dependendo do ambiente (Rufino *et al.*, 2007). *A. occidentale* representada pelo famoso "caju" é uma planta de grande importância comercial, pois é utilizada na alimentação e na medicina popular. Além disso, seu pedúnculo é consumido na forma de sucos e doces, e suas folhas têm uma variedade de propriedades farmacológicas, incluindo antioxidantes e antimicrobianas (Barbosa-Filho *et al.*, 2014; Ribeiro *et al.*, 2014; Barbosa-Filho *et al.*, 2015).

No entanto, a espécie deste estudo é tida como uma variedade do cajueiro (Ribeiro *et al.*, 2014). Do ponto de vista botânico, possui folhas coriáceas, pecíolo mais plano, nervura mais espessa, inflorescência menos densa, frutos pequenos e pedúnculo vermelho ou amarelo fortemente ácido, não mais que os frutos (Vieira, 2014).

Muitos autores relataram uma variedade de fitoquímicos no extrato de *A. occidentale*, incluindo p-hidroxibenzoico, protocatecuico e gálico, aglicona e flavonoides glicosilados como quercetina, miricetina, kaempferol e tanino (Brito *et al.*, 2007; Michodjehoun-Masters *et al.*, 2009), o que pode justificar pelo menos em parte os efeitos benéficos dessa planta (Barbosa *et al.*, 2012; Simões, 2010, 2016). No entanto, pouco se sabe sobre a composição química de *A. occidentale* coletada em diferentes ambientes.

Vários fatores bióticos e abióticos, como as características das chuvas e do solo, estão diretamente ligados à produção de metabólitos secundários. Assim, mudanças no

ambiente podem alterar ou modificar a produção dos constituintes químicos da planta (Santos *et al.*, 2009; Duarte *et al.*, 2010; Barbosa-Filho *et al.*, 2014). Por exemplo, o solo coberto por vegetação nativa e sem degradação humana pode ser determinante na produção de certos compostos produzidos por vegetais (Andreola *et al.*, 2000; Bertol *et al.*, 2004). Segundo Pedrotti *et al.* (2001), a qualidade físico-química do solo está diretamente relacionada ao crescimento e desenvolvimento da planta, pois determina o grau de resistência mecânica que o solo exerce sobre o crescimento radicular. É o caso dos solos de Cerrado, caracterizados por sua alta acidez, com poucos nutrientes essenciais para o desenvolvimento das plantas (Lopes; Cox, 1977; Coutinho, 2010).

Com o objetivo de entender a diversidade metabólica de *A. occidentale* em dois fragmentos diferentes do Cerrado onde está exposto, o presente estudo foi realizado para avaliar a composição química do extrato etanólico das folhas e das cascas de *A. occidentale* coletados nas cidades de "Lavras da Mangabeira" e "Crato", estado do Ceará, Brasil. Além disso, foi analisada a composição físico-química de ambos os solos (Lavras da Mangabeira e Crato).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Áreas de Coleta

A coleta foi realizada em dois fragmentos do Cerrado brasileiro (Figura. 1), na Chapada do Araripe e a Serra do Boqueirão, estas áreas foram escolhidas por possuírem manchas de Cerrado no meio de outro domínio morfoclimático. O primeiro está localizado no município de Crato-CE (-39° 24 '34" WGr e -7° 14' 03" S), na superfície tabular do município (800-1000 m de altitude), apresentando um clima semi-árido tropical ameno e quente clima tropical sub-úmido, com relevo pertencente à Chapada do Araripe e depressões no sertão. Os solos da Chapada do Araripe são classificados como aluvial, litológico, latossolo vermelho-amarelo e podzólico vermelho-amarelo, apresentando uma vegetação formada por floresta espinhosa decídua, sub-floresta tropical, sub-floresta tropical, chuva nebulosa sub-floresta tropical, chuva xeromórfica floresta tropical com precipitação de 1090,9 (mm), durante uma estação chuvosa de janeiro a maio, com temperaturas variando de 24 °C a 26 °C (IPECE, 2018).

A outra área, por sua vez, está localizada no município de Lavras da Mangabeira-CE (- 6° 45 ' e 12" WGr e -38° 58' 18" S), clima tropical semiárido quente ameno e semiárido tropical quente, com relevo pertencente a depressões sertanejas, de solos podzólicos não-cálicos, amarelo-avermelhados e solos litólicos que apresentam vegetação formada por caatinga de arbusto aberto, caatinga de arbusto denso, floresta de folha caduca espinhosa e floresta dicotilo-palmata antropizada mista e a um nível de 239m de altitude, com temperaturas variadas de 26 °C a 28 °C e precipitação de 866,4 (mm) entre janeiro e abril (IPECE, 2018).

As solicitações de autorização para a realização das atividades foram encaminhadas aos órgãos ambientais: Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético Tradicional Associado, sob o número de registro (A8D43F0) e ao sistema de autorização do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (70403-1).

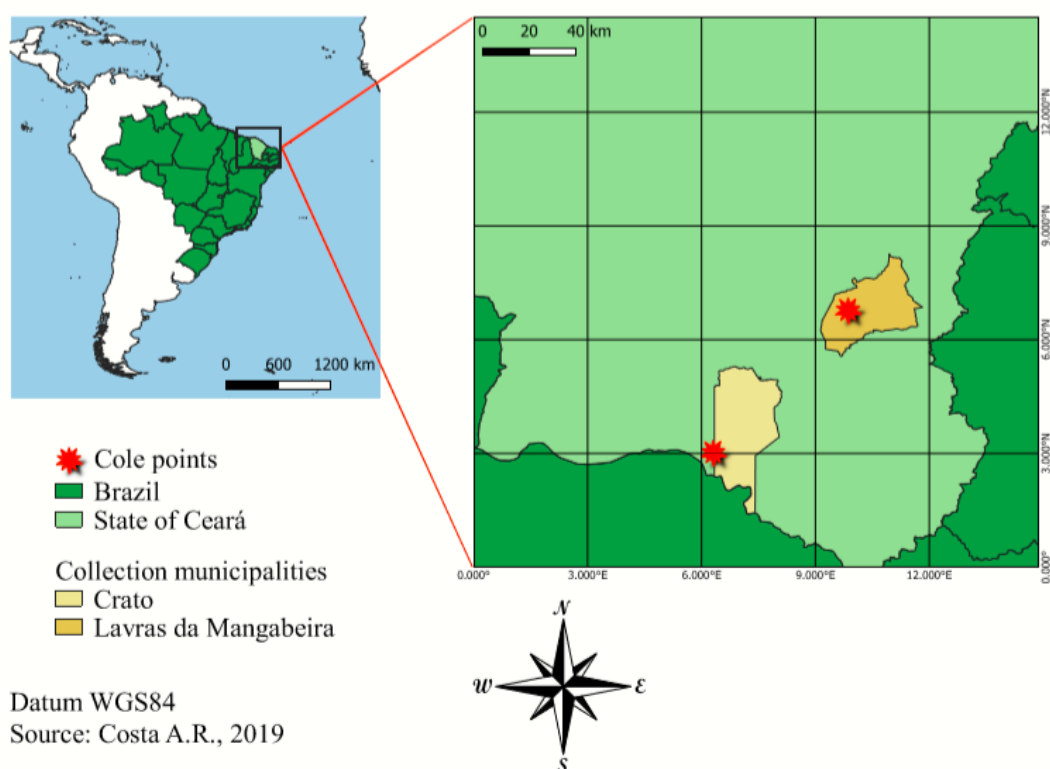


Figura 1. Localização geográfica das áreas de coleta no estado do Ceará- Brasil. Área 1. Crato; Área 2. Lavras da Mangabeira.

2.2 Material Botânico

Folhas e entrecascas de *A. occidentale* foram coletadas de três indivíduos diferentes de cada área, nos dois municípios mencionados anteriormente, no mês de outubro de 2018, às 13h pm. Em cada estudo da área, os indivíduos foram marcados pela fixação de nylon na árvore. A planta foi identificada por João Tavares Calixto Júnior e um espécime foi depositado no Herbário Cariense Dárdano de Andrade-Lima-HCDAL / URCA, sob o número de registro 13.690.

2.3 Preparações dos Extratos

As folhas (600 g) e as cascas (600 g) de *A. occidentale* foram lavadas em água corrente para remover resquícios de sujeira e depois expostas à sombra para secar. Os materiais secos foram colocados separadamente em frascos de vidro autoclavados e macerados com 1 L de etanol a 96% por 72 h. Após este período, a suspensão recebeu dupla filtração com algodão e o filtrado foi evaporado sob pressão reduzida em um evaporador rotativo. O rendimento dos extratos da área de Crato demonstrou que as folhas de *A. occidentale* (EFAo) foi de 2,65% e o extrato da casca de *A. occidentale* (ECAo) foi de 3,77%. Enquanto os rendimentos dos extratos de Lavras da Mangabeira foram de 2,10% e 2,30%, respectivamente.

2.4 Análises fitoquímica

2.4.1 Análise cromatográfica

Seguindo os procedimentos de Galvão *et al.* (2018), a análise foi realizada pelo sistema Acquity UPLC (Waters), associado ao sistema Quadrupole / tempo de voo (QtoF, Waters), pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA (Fortaleza-CE, Brasil). As execuções cromatográficas foram realizadas com uma coluna ACQUITY BEH C18 (150 mm × 2,1 mm, 1,7 µm; Waters Co.), usando uma temperatura da coluna ajustada para 40 °C, em um sistema Waters ACQUITY UPLC com um solvente binário e gerenciador de amostras.

As fases móveis foram formadas por duas soluções: 1- Água com ácido fórmico a 0,1% e 2- Acetonitrila com ácido fórmico a 0,1%, com gradiente variando de 2% a 95% de entre 0 e 15 min. A taxa de fluxo foi ajustada para 0,4 mL / min e o volume de injeção foi

de 5 μ L. Por fim, a temperatura do amostrador automático foi de 20 °C. O LC-DAD-ESI / MS foi usado como um sistema Varian HPLC-920 (Walnut Creek, CA) acoplado a um detector de matriz de diodos (DAD) e um espectrômetro de massa IT de 500-MS (Varian). As amostras foram pesadas e preparadas em acetonitrila (1:1, g / v).

2.4.2 Análise multivariada

Os dados expressos por UPLC-MS de todas as amostras determinadas foram controlados pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation) para identificar potenciais marcadores químicos discriminatórios em diferentes extratos de *A. occidentale*. Para a análise dos resultados, foram considerados os parâmetros de intervalo de tempo de 1 a 10 min e faixa de massa de 110 a 1120 Da. Foi realizado um levantamento bibliográfico em nível de família botânica. A identificação do pico foi determinada pelos valores de TR (Tempo de Retenção) em massa iônica (m/z) (Cunha *et al.*, 2017; Galvão *et al.*, 2018).

2.5 Análises físico-químicas do solo

As coletas de solo das duas áreas de estudo (Crato e Lavras da Mangabeira) foram realizadas com um coletor (material inoxidável) nas profundidades de 0-20 e 20-40 cm, e posteriormente colocadas em um balde de coleta para homogeneização. As amostras coletadas foram georreferenciadas com o auxílio das técnicas de localização do Sistema de Posicionamento Global (GPS) (Figura 1). Todas as amostras foram identificadas, embaladas em sacos plásticos e caixa de isopor, e posteriormente enviadas à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA (Petrolina-PE, Brasil), para determinação das concentrações de fósforo, potássio, sódio, cálcio, magnésio, alumínio e hidrogênio, bem como a capacidade de troca catiônica (CTC). As análises foram realizadas em três repetições. As análises físico-químicas foram realizadas de acordo com o Manual de Análise Química do Solo (EMBRAPA, 2013; Teixeira *et al.*, 2017).

2.6 Análise Estatística

Os compostos foram identificados por análise multivariada. Os dados da análise do solo foram expressos como média \pm SEM (erro padrão da média) e a comparação entre Lavras da Mangabeira e Crato foi realizada por Tukey ANOVA, seguida de post hoc

Boferone. Com um valor de $P < 0,05$, considerado estatisticamente significativo no software GraphPad Prism 6.0, bem como a correlação (precipitação) entre as duas áreas (dados fornecidos pela Funceme, como taxas mensais de precipitação).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Influências ambientais: chuva e fatores edáficos

Os resultados descritos na Figura 2 mostram que houve uma correlação positiva entre as chuvas das duas áreas de coleta, Lavras da Mangabeira e Crato, assim a positividade de “r” ($r = 0,9$) demonstra que a relação é diretamente proporcional. Esta correlação resume o grau de relacionamento entre as duas variáveis testadas, no caso as chuvas de Crato e Lavras da Mangabeira. Ou seja, o objetivo do estudo foi determinar (mensurar) o grau de relacionamento entre as taxas de chuvas e a influência que poderia ser observada na presença de determinados compostos.

O mês de abril foi o mês mais chuvoso, enquanto maio foi o menos chuvoso nos dois locais, em um período de janeiro a maio de 2018 (fig. 2). De acordo com a Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos - FUNCEME (2019), a precipitação mais significativa começa entre janeiro e fevereiro de cada ano e se estende até maio, podendo ser prorrogada até junho ou julho. No entanto, isso não aconteceu no ano de 2018, como evidenciado pelas baixas taxas de precipitação após o mês de maio. Houve uma pequena diferença entre as duas áreas de estudo. Como a Chapada do Araripe é composta por uma floresta nativa (ainda coberta por muita vegetação ao redor), apresentando, portanto, maior umidade e maior precipitação pluviométrica em comparação com outras áreas não caracterizadas como floresta, como observado em Lavras da Mangabeira (Ribeiro *et al.* 2014).

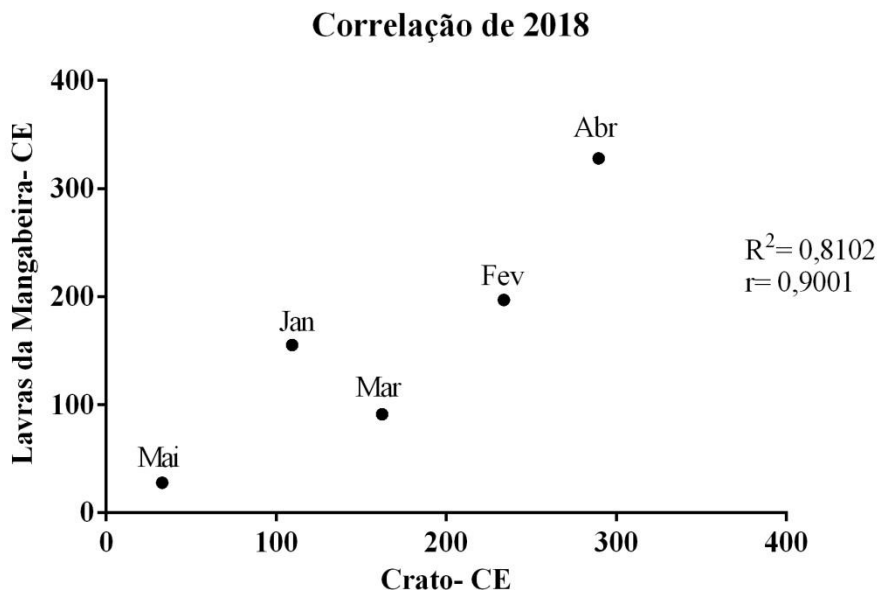


Figura 2. Correlação dos dados de precipitação nas duas cidades coletoras, Crato-CE e Lavras da Mangabeira-CE, de janeiro a maio de 2018. Jan. janeiro; Fev. Fevereiro; Mar. Março; Abr. Abril; Mai. Maio.

As análises das condições do solo (fatores edáficos) de ambos os locais são mostradas nas Figs. 3 e 4. Foi habilitado observar diferenças estatisticamente significantes entre a granulometria dos dois habitats estudados. Houve predomínio de areia total em ambas as áreas, exceto Crato no horizonte de 20-40 cm, onde foi observado predomínio do conteúdo de argila (291,9 g/kg) (fig. 3). Esse alto teor de argila esta relacionado à matéria originária do solo da Chapada do Araripe, com formação vermelho, amarelo distrofe proeminente da formação Exu (Oliveira, 2002).

A porosidade (Fig. 4) não mostrou variações significativas entre os estudos. É possível notar uma taxa entre 50-60% (Fig. 4). Por outro lado, a menor densidade do solo foi observada em Crato, onde a variação foi relativamente baixa entre os horizontes (Tab. 1). É importante destacar que altas taxas de porosidade e textura arenosa são fatores que não favorecem a retenção de água (Cavalcante *et al.*, 2010).

O Cerrado é caracterizado como uma área pobre em termos de nutrientes e água, deficiência de cálcio, baixa retenção de umidade e com pH do solo abaixo de 5 (Coutinho 2017), o que está alinhado com o obtido no presente estudo. Conforme ilustrado na Tabela 2, houve uma pequena variação na análise química dos horizontes das duas áreas de estudo.

Em Lavras da Mangabeira-CE, apresentaram pH de 4,6 e 4,7 nos horizontes de 0-20 cm e 20-40cm, respectivamente, enquanto em Crato-CE apresentou valores de pH de 4,2 e 4,3, respectivamente. Segundo Tomé Júnior (1997), os solos do Cerrado possuem pH ácido, e o pH ideal para o desenvolvimento das plantas seria entre 5,5 e 7,0. No presente estudo, o pH de ambas as áreas de estudo foi menor que 5 e isso pode ter um impacto negativo na absorção de nutrientes. De fato, o pH está diretamente relacionado à absorção de nutrientes importantes para a planta e, quando o ambiente é muito ácido, mais fraca é a absorção de nutrientes para as plantas, causando danos a elas (Cavalcante *et al.*, 2010; Dias; Blanco, 2010).

Do ponto de vista nutricional, nossos dados não detectaram carbono orgânico (C) nas áreas de estudo nos horizontes de 0-20 e 20-40 cm. Foi relatado que níveis de carbono orgânico, com valores abaixo de 10 g/kg^{-1} , são ideais para o uso atual do solo em condições semi-áridas da região (Oliveira *et al.*, 2002). A ordem dos macronutrientes do solo de Lavras da Mangabeira foi a seguinte: $\text{P} > \text{Al} > \text{Mg} > \text{Na} > \text{K} > \text{Ca}$, enquanto $\text{P} > \text{Al} > \text{Mg} > \text{K} > \text{Na} > \text{Ca}$, no solo de Crato (Tab. 2). Esse achado indica a predominância dos elementos fósforo (P) e alumínio (Al) nas duas áreas de estudo.

Destaca-se o fato de o nível de potássio (K) estar muito baixo no horizonte de Crato (0,16-0,20) se comparado ao de Lavras da Mangabeira (Tabela 2). Farias (2008), relatou que o K contribui para a redução do potencial osmótico entre solo e raiz, um processo de grande importância para a absorção de água. No entanto, sua redução, principalmente em ambientes com maiores taxas de salinidade, pode contribuir para o mau desenvolvimento da planta. Quanto aos dados da CTC, que é a soma dos teores permutáveis de Ca, Mg, K e Al, foram maiores nas amostras de Crato (0-20 cm, com 8,4 expressas em cmol c dm^{-3} e 20-40 cm com $5,2 \text{ cmol c dm}^{-3}$), comparado aos dados de Lavras da Mangabeira com 3,4 e 2,4, respectivamente (Tabela 2). Variações nos nutrientes químicos do solo estão diretamente relacionadas às condições ambientais em que estão. Quando as condições não são favoráveis, os valores nutricionais da planta podem ser corrigidos com o uso de fertilizantes orgânicos que possuem micronutrientes suficientes para o desenvolvimento da planta (Russell e Russell, 1973). No entanto, a dinâmica da natureza é um pouco diferente, no sentido de que as plantas precisam se adaptar às condições imposta pelo meio ambiente,

a fim de produzir metabólitos secundários capazes de suprir suas necessidades (Galvão et al., 2018).

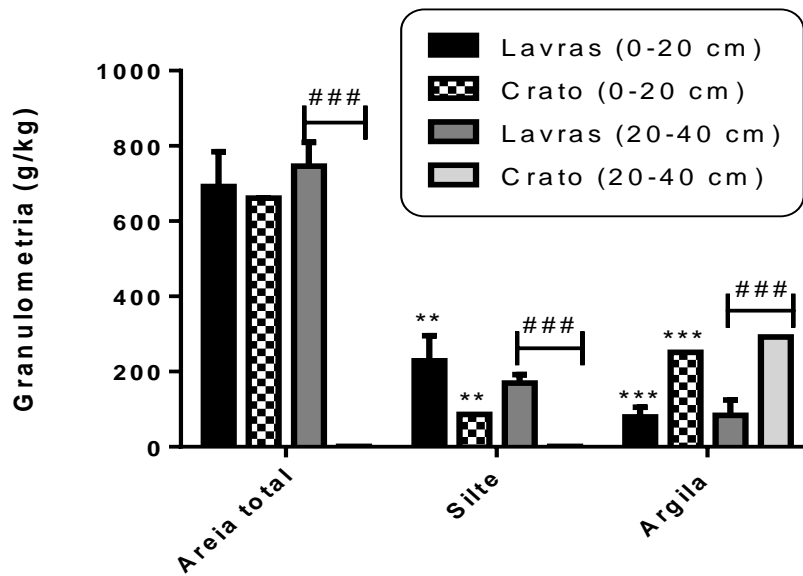


Figura 3. Características granulométricas do solo. Diferença entre Crato e Lavras 0-20 cm:

*; Diferença entre Crato e Lavras 20-40 cm: #; Ns: não significativo.

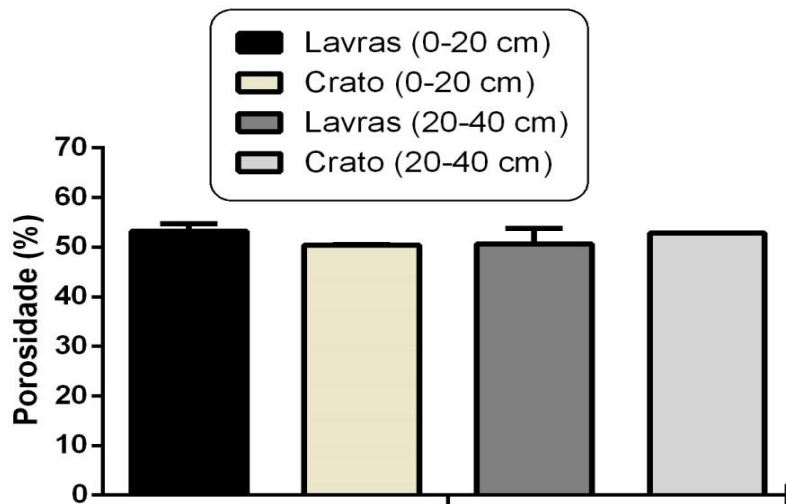


Figura 4. Porcentagem de porosidade do solo. Profundidade de 0-20cm de Lavras da Mangabeira e Crato e profundidade de 20-40cm respectivamente.

Table 1. Análise física da densidade do solo e das partículas dos horizontes de duas áreas de coleta.

Amostra	Densidade	
	Solo	Partículas
	(kg/dm ³)	
Lavras da Mangabeira 0-20 cm	1.316	2.712109
Lavras da Mangabeira 20-40 cm	1.392	2.648552
Crato 0-20 cm	1.247	2.518355
Crato 20-40 cm	1.203	2.549564

Tabela 2. Análise química do solo dos horizontes de duas áreas de estudo

Amostras	E.C	Ph	P	K	Na	Ca	Mg	Al	H+Al	SB	CTC	V
	<i>mS cm⁻¹</i>	-	<i>mg</i>				⁻³					<i>%</i>
	<i>l</i>		<i>dm⁻³</i>				<i>cmol_c dm⁻³</i>					
Lavras 0-20 cm	0.00	4.6	0.92	0.16	0.10	0.5	0.25	0.45	2.4	1.0	3.4	28.6
	ns	ns	***	ns	***	ns	ns	***	*	Ns	***	***
Lavras 20-40 cm	0.77	4.7	0.71	0.20	0.10	0.5	0.20	0.40	1.4	1.0	2.4	41.0
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	###	Ns	###	###
Crato 0-20 cm	0.18	4.2	3.30	0.09	0.11	0.5	0.25	1.15	7.4	1.0	8.4	11.3
	ns	ns	***	ns	***	ns	ns	***	*	Ns	***	***
Crato 20-40 cm	0.17	4.3	0.99	0.07	0.15	0.5	0.25	0.90	4.3	0.9	5.2	17.6
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	###	Ns	###	###

Os valores são médias (n = 3) e fornecem uma indicação de variabilidade, p. desvio padrão. C.E: Condutividade elétrica; pH: potencial Hidrogeniônico; P: fósforo; K: potássio; Na: sódio; Ca: Cálcio; Mg: magnésio; Al: Alumínio; H: hidrogênio; SB: Soma das bases; CTC: capacidade de troca catiônica; V: porcentagem de saturação por bases. Diferença entre Crato e Lavras 0-20 cm: *; Diferença entre Crato e Lavras 20-40 cm: #; Ns: não significativo.

3.2 Análises Fitoquímica

Os extratos das folhas e casca de *A. occidentale* de duas áreas distintas foram submetidos à análise cromatográfica por UPLC QTOF-MS no modo de ionização negativa. A Fig. 5 e a Fig. 6 mostram os cromatogramas de espectrometria de massa de alto desempenho (UPLC-MS) das folhas (Fig. 5A e Fig. 5B) e extratos de casca (Fig. 6A e 6B) de *A. occidentale* coletados respectivamente em Crato (Fig. 5A e Fig. 6A) e Lavras da Mangabeira (Fig. 5B e Fig. 6B). Em geral, houve diferenças nos picos eluídos entre partes da planta (folha e casca) e áreas de coleta (Crato e Lavras da Mangabeira) (Fig. 5 e Fig. 6).

Um total de 33 compostos foram encontrados, o tempo de retenção (Rt), a massa observada e a massa calculada associada à fórmula estrutural de cada composto, bem como seus valores de erro (ppm <10) estão representados na Tabela 3. Deve-se ressaltar que os dados foram fornecidos por baixa energia (MS) e seus respectivos fragmentos por parâmetro de alta energia (MS-MS). Todos os compostos foram caracterizados pela interpretação de seus espectros de massa determinados por QTOF / MS e comparados com dados da literatura em nível de família e gênero em bancos de dados de periódicos.

Infelizmente, alguns compostos não foram identificados na literatura (m/z 449.1295; m/z 389.1084; m/z 635.0943; m/z 787.1088; m/z 631.0635; m/z 523.2179). Desse total, 13 estavam presentes em pelo menos uma das partes vegetais, a maioria desses compostos estava presente em ambas às áreas de Crato e Lavras da Mangabeira. Por exemplo, o monogaloil-diglucose estava presente apenas no extrato das folhas de ambas as áreas, o ácido gálico estava presente em todas as amostras testadas, o hexosídeo ácido gálico-gálico estava ausente apenas na amostra dos extratos das folhas de Crato, a hexose do ácido desidrofásico presente no extrato da casca de Crato e na folha de Lavras, 2 - hidroxil-4-metoxifenol-1-O-β-D- (6'-O-galoil) - lucopiranósido e quercetina O- hexosídeo estavam ausentes apenas nos extratos da casca de Lavras, a quercetina O- (O-galoyl) - hexósido estava presente apenas nos extratos da área de Crato, a epicatequina galato estava ausente apenas no extrato da casca de Crato, e a quercetina galoyl pentoside estava ausente apenas no extrato da casca de Lavras. Os seguintes compostos exibiram o mesmo tempo de retenção em ambas as amostras da área de Crato: luteolina (folhas da área de Crato e casca de Lavras), agathisflavone (presente em todas as amostras), ácido 9,12,13-trihydroxyoctadeca enoic e cafeoil-D-glicose. Estes dois últimos estavam presentes apenas

nos extratos das cascas das duas áreas. Todos tiveram tempos de retenção aproximados de uma área para outra.

É importante enfatizar que a maioria dos compostos identificados são derivados de polifenóis como derivados de ácido gálico, flavonoides, taninos e chalconas, formados por ligações estratificadas de carbono (Bandeira 2002; Simões *et al.*, 2016), dependendo das condições ambientais da planta e suas necessidades metabólicas (Silva *et al.*, 2017) (Fig. 7).

Fragmentos típicos importantes na formação de inúmeros compostos, como o ácido gálico (m/z 169), precursor na formação de 18 compostos, são classificados como um ácido fenólico, também conhecido como ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico. O ácido gálico apresenta uma série de atividades biológicas relevantes bem conhecidas na literatura, cuja ingestão adequada pode ser benéfica à saúde (Li *et al.*, 2017). Além disso, a quercetina (m/z 301), que não foi encontrada na forma isolada como padrão analítico de referência, sendo apenas detectado como esterificada com unidades de açúcar, formando novos compostos secundários, como por exemplo, na formação de compostos típicos como a quercetina- O - hexosídeo (isoquercetina) e quercetina ramnosídeo (formado a partir da quercetina e da ramificação do açúcar desoxi). Vários estudos relataram a presença de ácido gálico e quercetina em diferentes espécies de plantas já analisadas da família Anacardiaceae (Brito *et al.*, 2007; AbuReidar *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2016).

Além destes, agathisflavona também se destaca, assim como a quercetina. Ambos são relatados por apresentar uma série de atividades farmacológicas e biológicas relevantes, como: gastroprotetor, carcinogênico, anti-inflamatório, microbiológico e antioxidante (Sousa *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2012; Minozzo *et al.*, 2016). Esses três compostos (ácido gálico, quercetina (estratificada) e agathisflavona) presentes nas duas amostras analisadas estão representados nas figuras 8A, 8B e 8C, respectivamente.

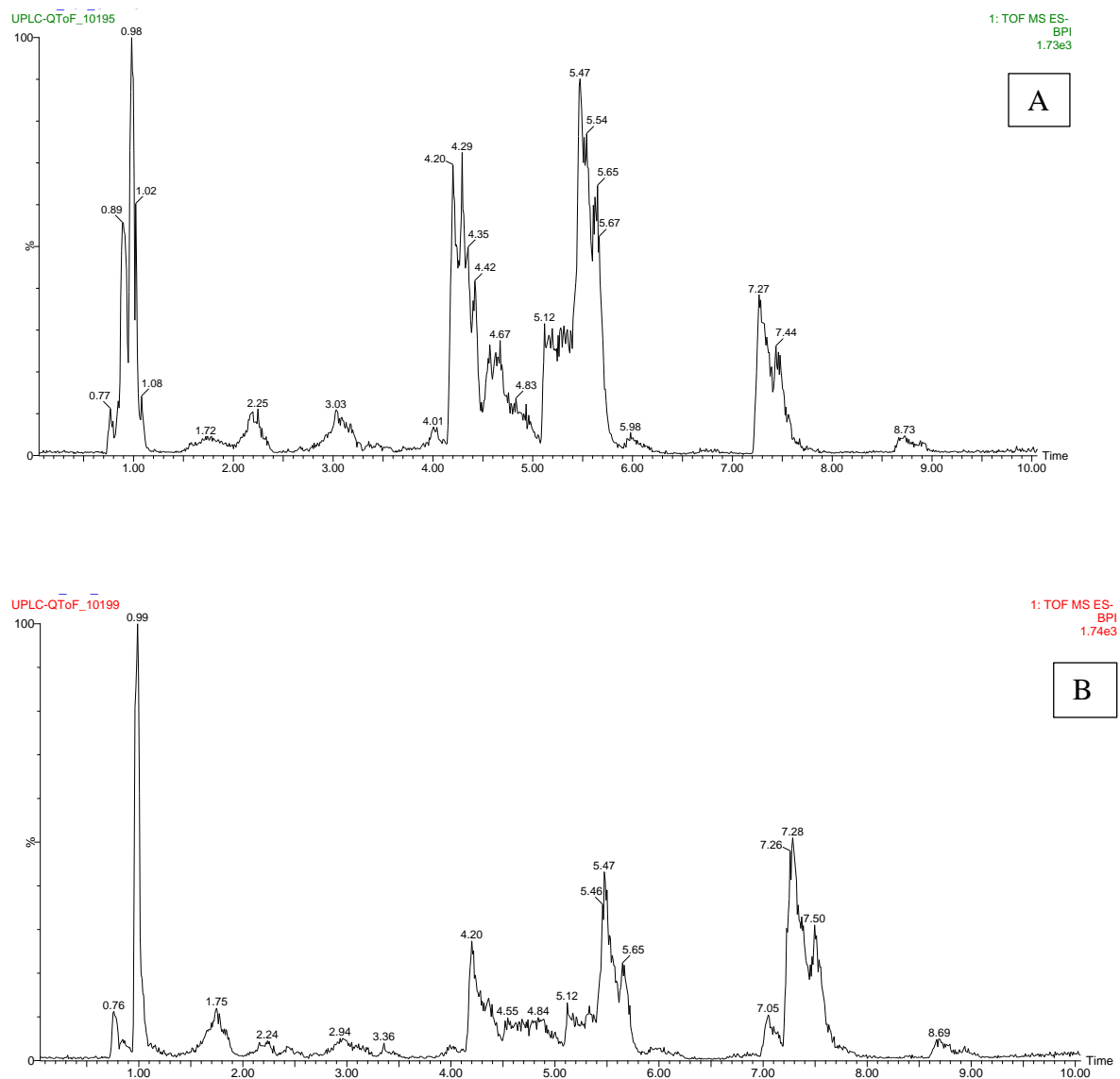


Figura 5. Cromatogramas típicos de intensidade de pico de base (BPI) que mostram os perfis de folhas de *A. occidentale* no modo de ionização negativa nos municípios de Crato (A) e Lavras da Mangabeira (B), Ceará-Brasil.

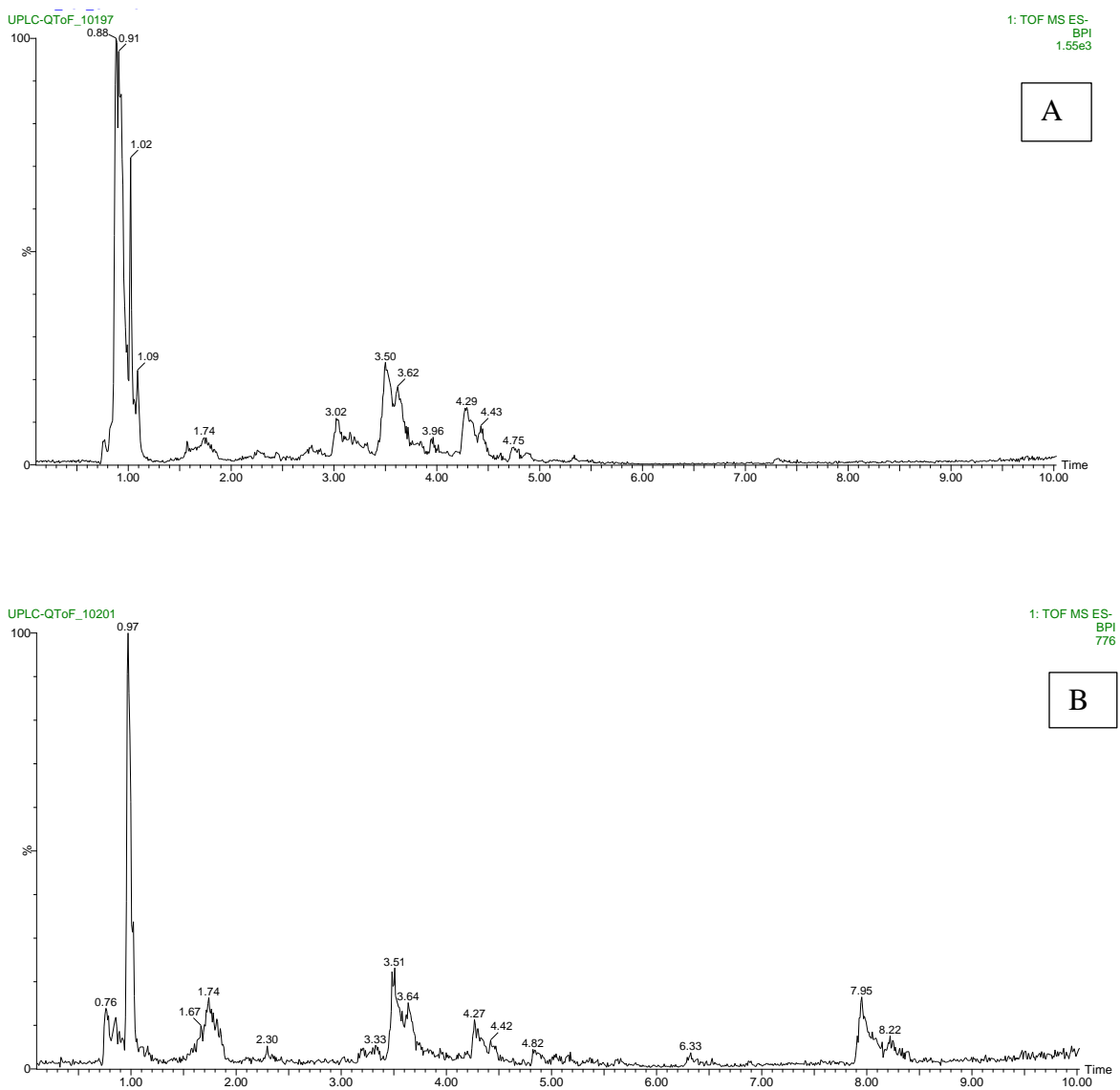


Figura 6. Cromatogramas típicos de intensidade de pico de base (BPI), mostrando os perfis de casca de *A. occidentale* no modo de ionização negativa nos municípios de Crato (A) e Lavras da Mangabeira (B), Ceará-Brasil.

Tabela 3. Compostos fitoquímicos detectados e caracterizados dos extratos de *Anacardium occidentale*. ELAo (extrato da folha de *A. occidentale*), EBAo (extrato da casca de *A. occidentale*), usando UPLC-DAD / QTOF-MS nos modos de ionização negativa.

Peak no.	Rt Min	[M-H] ⁻ Observed	[M-H] ⁻ Calculated	Product Ions (MS/MS)	Empirical Formula	ppm (error)	Putative Name	Ref.	EL Ao-13 CR	ELAo -13 LM	EBAo -13 CR	EBAo -13 LM
1	0.87	683.2217	683.2222	503.1231, 341.1024, 179.0535	C ₄₉ H ₃₂ O ₄	-0.7	Hexose polimer	Cunha <i>et al.</i> , 2017			X	
2	1.03	493.1176	493.1193	331.0615, 169.0127, 125.0252	C ₁₉ H ₂₅ O ₁₅	-3.4	Mono galloyl-diglucose	Cunha <i>et al.</i> , 2017	X		X	
3	1.08	483.0753	483.0775	331.0732, 271.0323	C ₂₀ H ₂₁ O ₁₄		Digalloylglucose	Cunha <i>et al.</i> , 2017			X	
4	1.16	331.0529	331.0513	271.0492; 241.0204; 211.0263; 169.0102	C ₉ H ₁₆ O ₁₃	4.8	Monogalloyl-glucose	Cunha <i>et al.</i> , 2017				X
5	2.14	169.0132	169.0137	125.0226	C ₇ H ₅ O ₅	-3.0	Gallic acid	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X	X	X	X
6	2.24	449.1283	449.1295	169.0107; 125.0229	C ₁₈ H ₂₅ O ₁₃	-2.7	N.I	Luz, <i>et al.</i> , 2018	X	X		
7	2.62	389.1105	389.1084	271.0476; 169.0136; 125.0213	C ₁₆ H ₂₂ O ₁₁	5.4	N.I	Luz, <i>et al.</i> , 2018		X		
8	2.82	577.1367	577.1346	407.0617, 289.0786	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂	3.6	B-type procyanidin	Cunha <i>et al.</i> ,			X	

							dimer	2017; Galvão <i>et al.</i> , 2018				
9	2.86	483.0740	483.0775	331.0666, 169.0111	C ₂₀ H ₁₉ O ₁₄	-3.5	Gallic acid-galloyl hexoside	Cunha <i>et al.</i> , 2017; Luz <i>et al.</i> , 2018		X	X	X
10	2.86	443.1926	443.1917	-	C ₂₁ H ₃₁ O ₁₀	2.0	Dehydrophaseic acid hexose	Cunha <i>et al.</i> , 2017;		X	X	
11	3.05	453.1023	453.1033	169.0085	C ₂₀ H ₂₂ O ₁₂	3.1	2-Hydroxy-4-methoxyphenol-1-O-β-D-(6'-O-galloyl)-lucopyranoside	Luz <i>et al.</i> , 2018	X	X	X	
12	3.39	467.0815	467.0826	153.0237	C ₂₀ H ₁₉ O ₁₃	-2.4	O-Galloylnorbergenin	Luz <i>et al.</i> , 2018		X		
13	3.41	467.0924	447.0919	169.0167; 217.0787	C ₃₁ H ₁₅ O ₅	1.1	Gallic Acid derivative I	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X	X		
14	3.47	635.0939	635.0943	169.0137	C ₂₀ H ₂₈ O ₁₂	3.1	N.I	Luz <i>et al.</i> , 2018	X	X	X	X
15	3.59	787.0991	787.0994	615.0738, 465;0699; 169.0132;	C ₃₄ H ₂₇ O ₂₂	-0.4	Tetra-Ogalloylhexoside	Galvão <i>et al.</i> , 2018; Luz <i>et</i>	X	X		

								<i>al.</i> , 2018				
16	3.61	787.1104	787.1088	169.1116, 125.0180	C ₄₅ H ₂₃ O ₁₄	2.0	N.I	Luz <i>et al.</i> , 2018		X		
17	3.83	631.0925	631.0935	169.9995, 125.0183	C ₂₈ H ₂₃ O ₁₇	-1.6	N.I	Luz <i>et al.</i> , 2018		X		
18	4.08	633.0693	633.0728	169.0135	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₈	-5.5	Corilagina	Luz <i>et al.</i> , 2018			X	
19	4.22	463.0866	463.0877	301.0301, 271.0309	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₂	-2.4	Quercetin O- hexoside	Galvão <i>et al.</i> , 2018; Cunha <i>et al.</i> , 2017; Luz <i>et al.</i> , 2018	X	X	X	
20	4.23	615.1017	615.0986	169.0125	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	-5.0	Quercetin- <i>O</i> -(<i>O</i> - galloyl)- hexoside	Luz <i>et al.</i> , 2018	X		X	
21	4.31	441.0812	441.0822	289.0745; 169.0103; 125.0229	C ₂₂ H ₁₇ O ₁₀	-2.3	Epicatechin gallate*	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X		X	X
22	4.68	1091.1276	1091.1213	939.1034, 769.0889, 617.0764	C ₄₈ H ₃₅ O ₃₀	5.8	Hexagalloylhexo side	Galvão <i>et al.</i> ,	X	X		

								2018				
23	4.72	447.0931	447.0927	301.0317	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	0.9	Quercetin rhamnoside	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X			
24	4.71	585.0889	587.0880	301.0296; 169.0143	C ₂₇ H ₂₂ O ₁₅	1.5	Quercetin galloyl pentosidea	Luz <i>et al.</i> , 2018	X	X	X	
25	5.13	939.1073	939.1104	769.0899, 617.0815	C ₄₁ H ₃₁ O ₂₆	-3.3	Pentagalloyl-hexoside Isomer	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X	X		
26	5.18	349.0561	349.0560	197.0103; 169.0103	C ₁₆ H ₁₄ O ₉	0.3	Ethyl 2,4-dihydroxy-3-(3,4,5-trihydroxybenzoyl)oxybenzoate	Luz <i>et al.</i> , 2018	X	X		
27	5.48	599.1049	599.1037	301.0404	C ₂₈ H ₂₃ O ₁₅	-2.0	Quercetin galloyl- <i>O</i> -eoxy-hexoside	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X	X		
28	5.60	523.2189	523.2179	169.0111; 125.0177	C ₂₈ H ₂₃ O ₁₅	1.9	N.I	Luz <i>et al.</i> , 2018	X	X		
29	5.85	285.0397	285.0399	-	C ₁₅ H ₉ O ₆	-0.7	Luteolin*	Cunha <i>et al.</i> , 2017; Galvão <i>et al.</i> , 2018	X			X
30	6.95	327.2169	327.2171	-	C ₁₈ H ₃₁ O ₅	-0.6	9,12,13-Trihydroxyoctad	Galvão <i>et al.</i> , 2018		X		

							ec adienoic acid					
31	7.27	537.0812	537.0822	375.0466	C ₃₀ H ₁₇ O ₁₀	-1.9	Agathisflavone	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X	X	X	X
32	7.33	329.2311	329.2328	229.1483; 211.1323	C ₁₈ H ₃₃ O ₅	-0.9	9,12,13- Trihydroxyoctad eca enoic acid	Galvão <i>et al.</i> , 2018		X		X
33	8.90	339.1967	339.1960	-	C ₂₂ H ₂₈ O ₃	4.4	Caffeoyl-D- glucose	Cunha <i>et al.</i> , 2017		X		X

ELAo-CR (extrato da folha de *A. occidentale* na cidade de Crato), ELAo-LM (extrato da folha de *A. occidentale* de Lavras da Magabeira) e EBAo-CR (extrato da casca de *A. occidentale* na cidade de Crato), EBAo-LM (extrato da casca de *A. occidentale* de Lavras da Magabeira). N.I: não identificado.

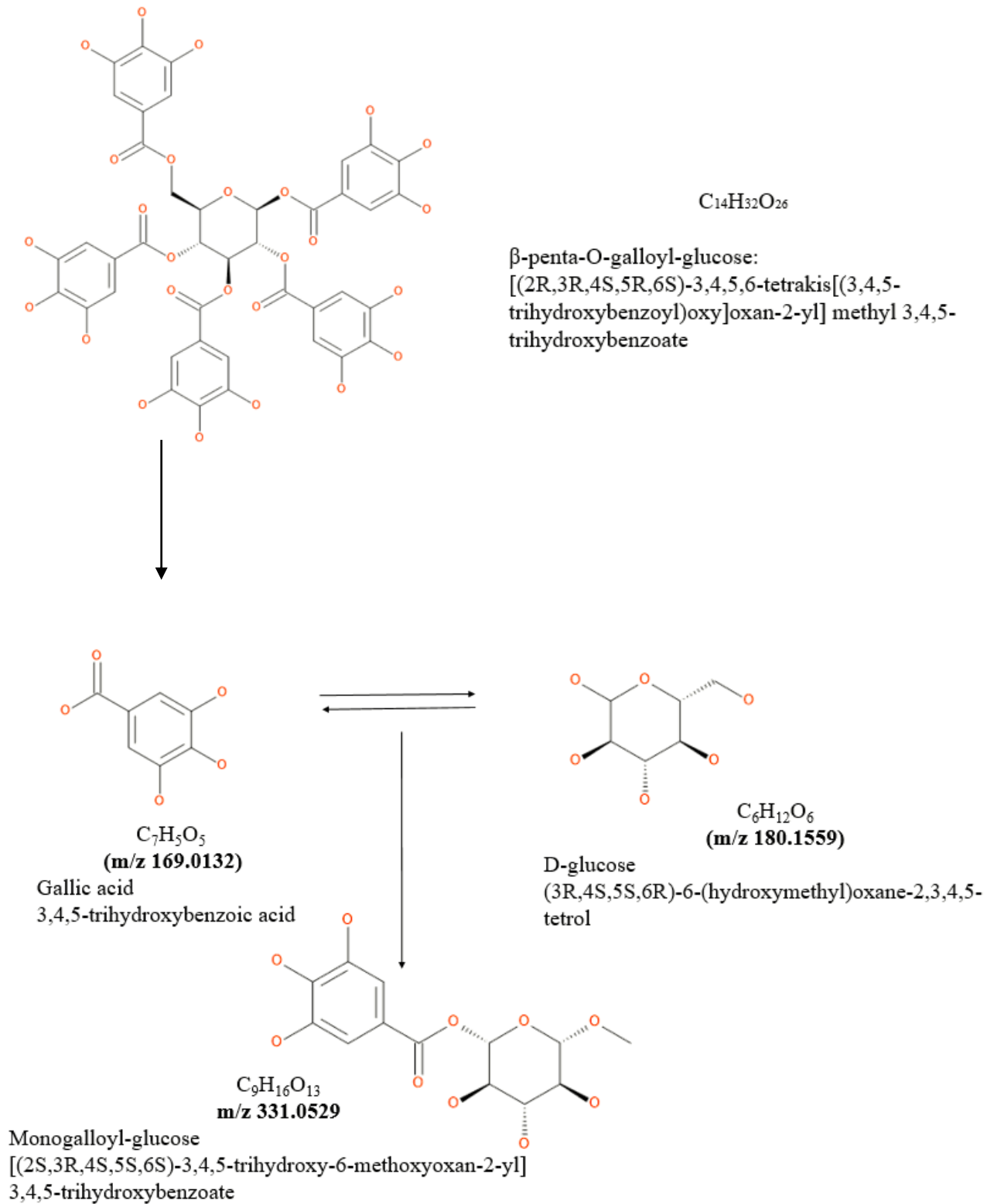


Figura 7. Estrutura proposta da molécula de monogaloil-glicose. Constituinte químico de galoyl contendo galotanina. Fonte: Costa (2019), as estruturas químicas foram adaptado de Pubchem (2019).

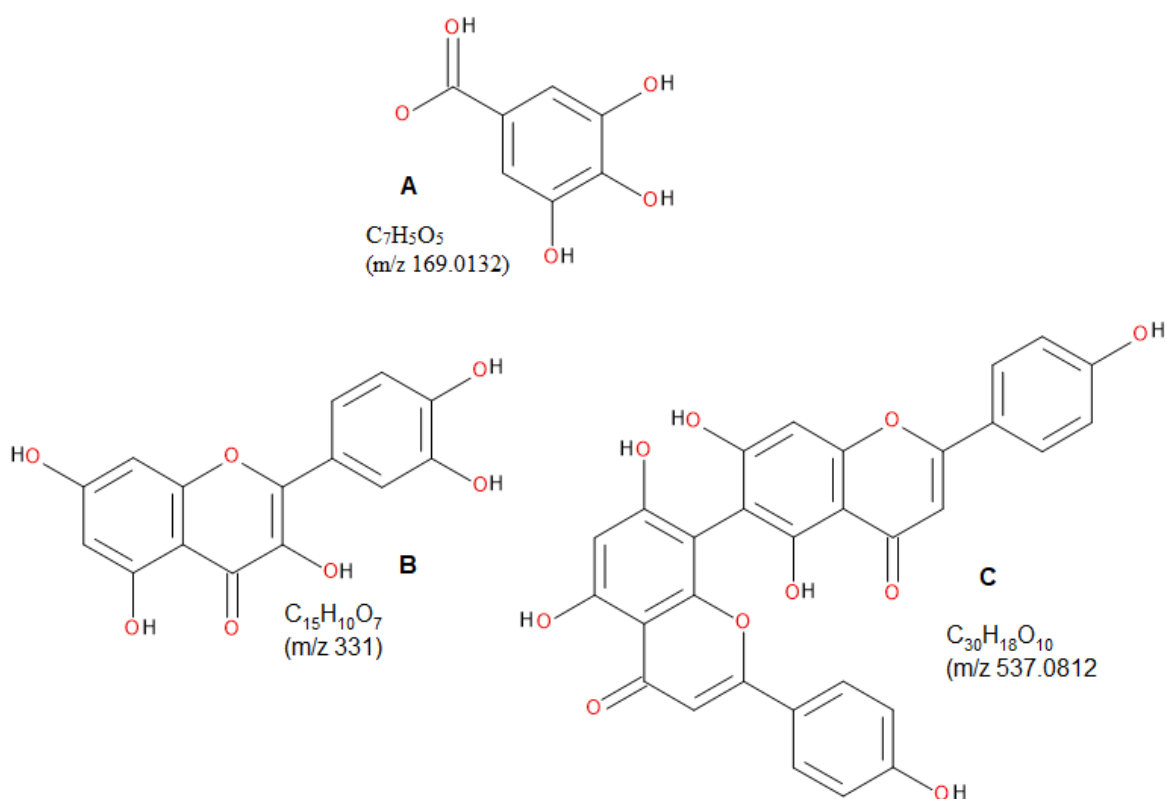


Figura 8. Estrutura química e nomenclatura (IUPAC) do ácido gálico (A), quercetina (B) e agatisflavona (C). Fonte: adaptado de Pubchem (2019).

4. CONCLUSÕES

O presente estudo mostrou as semelhanças pluviométricas e nutricionais dos solos de Crato e Lavras da Mangabeira, no Ceará. As duas áreas estudadas destacam-se como arenosas em suas texturas, com grandes valores de areia total, além de pouca variação entre pH e valores de nutrientes entre seus horizontes. Os compostos do extrato da casca e da folha de *A. occidentale* coletados nas duas áreas de estudo foram muito semelhantes, apresentando ácidos fenólicos, flavonoides e taninos em todos os extratos avaliados. Tais estudos são relevantes para avaliar as influências ambientais na produção química secundária, uma vez que a disponibilidade de recursos influencia na composição química.

AGRADECIMENTOS

O reconhecimento deste trabalho vai para a Universidade Regional do Cariri-URCA, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Agroindústria Tropical (EMBRAPA-Fortaleza-CE) e do Semiárido (EMBRAPA-Petrolina-PE) e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico –FUNCAP, por todo o apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Abu-Reidah, I.M., *et al.*, 2015. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. *Food. Chem.* 166, 179–191. 10.1016/j.foodchem.2014.06.011.
- Andreola, F., *et al.*, 2000. A cobertura vegetal de inverno e a adubação orgânica e, ou, mineral influenciando a sucessão feijão/milho. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 24 (4), 867-874. 10.1590/S0100-06832000000400018.
- Bandeira, M.A.M., 2002. *Myracrodruon urundeuva* Allemao (Aroeira-do-Sertão): Active chemical constituents of the developing and adult plant. Federal University of Ceará.
- Barbosa, P., *et al.*, 2012. Influence of abiotic factors on the chemical composition of copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne): soil composition, seasonality and diameter at breast height. *J. Braz. Chem. Soc.* 23, 1823–1833. 10.1590/S0103-50532012005000049.
- Barbosa-Filho, *et al.*, 2014. Phytochemical constituents, antioxidant activity, cytotoxicity and osmotic fragility effects of Caju (*Anacardium microcarpum*). *Industr. Crops.* 55, 280-8. 10.1016/j.indcrop.2014.02.021.
- Barbosa-Filho, *et al.*, 2015. Phytochemicals and modulatory effects of *Anacardium microcarpum* (caju) on antibiotic drugs used in clinical infections. *Drug. Des. Devel. Ther.* 9, 5965-72. 10.2147/DDDT.S93145.
- Bertol, I., *et al.*, 2004. Propriedades físicas do solo sob preparo convencional e semeadura direta em rotação e sucessão de culturas comparadas às do campo nativo. *Rev. Bras. Ciênc. Solo.* 28 (1), 155-163, 2004. 10.1590/S0100-06832004000100015.
- Brito, E.S., *et al.*, 2007. Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. *Food. Chem.* 105, 1112–1118. 10.1016/j.foodchem.2007.02.009.

- Cavalcante, L. F., *et al.*, 2010. Fontes e níveis da salinidade da água na formação de mudas de mamoeiro cv. Sunrise solo Rev. Bras. Ciênc. Solo, 31, 1281- 1290. 10.5433/1679-0359.2010v31n4sup1p1281.
- Coutinho, N., *et al.* 2010a. Produção de matéria seca e estado nutricional do rabanete em função da adubação nitrogenada e potássica. Nucleus, 7 (2), 105-114. 10.3738/1982.2278-349.
- Coutinho, R.P., *et al.*, 2010b. Estoque de carbono e nitrogênio e emissão de N₂ O em diferentes usos do solo na Mata Atlântica. Pesq. Agropec. Bras.45, (2) 195-203. 10.1590/S0100-204X2010000200011.
- Cunha, A.G., *et al.*, 2017. UPLC–qTOF-MS/MS-based phenolic profile and their biosynthetic enzyme activity used to discriminate between cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) Maturation Stages. J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci. 15 (1051), 24-32. 10.1016/j.jchromb.2017.02.022.
- Dias, N.D., Blanco, F.F. 2010. Efeitos dos sais no solo e na planta. In: Gheyi, H.R., *et al.*, 201. Manejo da salinidade na agricultura: Estudos básicos e aplicados. Fortaleza: Instituto Nacion. de Ciênc. e Tecno. em Salinidade. 129-140.
- Duarte, A.R., Santos, S.C., Seraphin, J.C., Ferri, P.H., 2010. Environmental influence on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* leaves. J. Braz. Chem. Soc. 21, 1672–1680. 10.1590/S0103-50532010000900011
- Ducke, A., 1922. Plantes nouvelles ou peu connues de la re'gion amazonienne (Ile Partie), edição. Arch Jard Bot do Rio de Janeiro. 3, 3–269.
- Humberto G.S. 2013. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos, 3 edição. Embrapa, Brasília, DF.
- Farias, S.G.G., *et. al.*, 2008. Estresse osmótico na germinação, crescimento e nutrição mineral de glicirídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.). 61f. (Dissertação – Mestrado) Universidade Federal de Campina Grande. Brasil.
- Farias, S.G.G., *et. al.*, 2009. Estresse salino no crescimento inicial e nutrição mineral de glicirídia (*Gliricidia sepium* Jacq.) Kunt ex Steud) em solução nutritiva. Rev. Bras. Ciênc. Solo. 33, 1499-1505. 10.1590/1807-1929/agriambi.v20n12p1067-1071.
- Feuereisen, M.M., *et al.*, 2017. Pressurized liquid extraction of anthocyanins and biflavonoids from *Schinus terebinthifolius* Raddi: A multivariate optimization. Food Chem. 214, 564–57. 10.1016/j.foodchem.2016.07.002.
- Figueiredo, L.S, *et. al.*, 2009. Efeito da época de colheita na produção de fitomassa e rendimento de óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.). Rev. Bras. Plantas. Med. 11, 154–158. 0.1590/S1516-05722009000200007.
- Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos- FUNCEME (2019). http://www.funceme.br/?page_id=2702. (Acessado em 11 de agosto de 2019).

Galvão, W.R., et al., 2018. Gastroprotective and anti-inflammatory activities integrated to chemical composition of *Myracrodruon urundeuva* Allemão - a conservationist proposal for the species. *J. Ethnopharmacol.* 222, 177-189.

IPECE: Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará, atualização de 2017. Disponível em: <https://www.ipece.ce.gov.br/perfil-municipal-2017/>. (Acessado em 30 de agosto de 2018).

Li, B., et al., 1997. Selection of antioxidants against ovarian oxidative stress in mouse model. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 31, 12. 10.1002/jbt.21997.

Lopes, A.S., Cox, F.R., 1977. A survey of the fertility status of surface soils under “Cerrado” vegetation in Brazil. *Soil. Sci. Soc. Am. J. Madison*, 41 (4), 742-7. 10.2136/sssaj1977.03615995004100040026x.

Luz, C.L.S., et al., 2017. Anacardiaceae in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB77852>>. Acesso em: 28 jun. 2019.

Paulo, C.T., et al., 2017. Manual de métodos de análise de solo editores técnicos. – 3. ed. Embrapa, Rev. e Ampl. – Brasília, DF, p. 574.

Michodjehoun-Mestres, W., Amraoui, J.M., 2009. Brillouet, Isolation, characterization, and determination of 1-O-trans-cinnamoyl-beta-D-glucopyranose in the epidermis and flesh of developing cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) and four of its genotypes. *J. Agri. Food. Chem.* 57, 1377–82. 10.1021/jf803174c.

Minozzo, B.R., et al., 2016. Anti-ulcer mechanisms of polyphenols extract of *Euphorbia umbellata* (Pax) Bruyns (Euphorbiaceae). *J. Ethnopharmacol.* 191, 29–40. 10.1016/j.jep.2016.06.032.

Ning, et al., 2019. Identification of α -glucosidase inhibitors from cyclocarya paliurus tea leaves using UF-UPLC-Q/TOF-MS/MS and molecular docking. *Food. Funct.* 10. 1893. 10.1039/c8fo01845f.

Oliveira, et al., 2016. Chemical profile of mango (*Mangifera indica* L.) using electrospray ionisation mass spectrometry (ESIMS). *Food. Chem.* 204, 37–45. 10.1039/c8fo01845f.

Oliveira, L. B., et al., 2003. Classificação de solos planossólicos do sertão do araripe (pe). *R. Bras. Ci. Solo.* 27, 685-693. 10.1590/S0100-06832003000400013.

Oliveira, L.B. 2002. Solos planossólicos do Sertão do Araripe: caracterização, classificação e gênese. Recife, Universidade Federal Rural de Pernambuco. (Tese de Mestrado), 107.

Pedrotti, et al., 2001. Resistência mecânica à penetração de um Planossolo submetido a diferentes sistemas de cultivo. *R. Bras. Ci. Solo.* 25, 521-529. 10.1590/S0100-06832001000300001.

- Pereira, R.J., Cardoso, M.G. 2012. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. J. Biotec. Biodivers. 3 (4), 146-152.
- Ribeiro, D.A., *et al.*, 2014. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado área of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. J. Ethnopharmacol. 155, 1522–1533. 10.1016/j.jep.2014.07.042.
- Ribeiro, M.R., *et al.*, 2012. Química dos solos salinos e sódicos. In: Melo, V., Alleoni, L.R.F. (ed.). Química e mineralogia do solo. 2009. Parte II – Aplicações. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer, Goiânia. 8 (15), 1578 Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. p. 449-484.
- Rufino, M.S.M., *et al.*, 2008. Utilização atual do cajuí nativo da vegetação litorânea do Piauí, Brazil.
- Russell, E.W.; Russell, E.J. Soil conditions and plant growth. 10th ed. London, Longmans Green, 1973. 849 p.
- Santos, A., *et al.*, 2009. Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. Rev. Bras. Farm. 19, 436–441. 10.1590/S0102-695X2009000300017.
- Santos, R.C., *et al.*, 2012. *Byrsonima intermedia* A. Juss.: Gastric and duodenal anti-ulcer, antimicrobial and antidiarrheal effects in experimental rodent models. J. Ethnopharmacol. 140, 203– 212. 10.1016/j.jep.2011.12.008.
- Schossler, T.D., *et al.*, 2012. Salinidade: efeitos na fisiologia e na nutrição mineral de plantas. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia. 8, 15.
- Sertão, M.A.J., 2005. Uso de corretivos e cultivo do capim urocloa (*Urocloa mosambicensis* Hack.) em solos degradados do semi-árido. 75f. (Dissertação – Mestrado) Universidade Federal de Campina Grande. Brasil.
- Silva, G. S., *et al.*, 2017. Chemical profiling of guarana seeds (*Paullinia cupana*) from different geographical origins using uplc-qtof-ms combined with chemometrics. Food. Res. Int. 102, 700-709. 10.1016/j.foodres.2017.09.055.
- Simões, C.M.O., *et al.*, 2010. Farmacognosia: Da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Da Universidade Federal de Santa Catarina, p. 1102.
- Simões, C.M.O., *et al.*, 2016. Farmacognosia: Do produto natural ao medicamento. Artmed Editora. 7. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Universidade/ Universidade Federal do Rio Grande do Sul/ Da Universidade Federal de Santa Catarina, p. 1000.
- Souza, S.M., *et al.*, 2007. Antiinflammatory and antiulcer properties of tannins from *Myracrodruon urundeuva* Allemão (Anacardiaceae) in rodents. Phytother Res. 21, 220-225. 10.1002/ptr.2011
- Maria, S.M.R., 2007. Suporte tecnológico para a exploração racional do cajuzeiro, Fortaleza. Embrapa Agroindústria Tropical, p. 30.

Teixeira, P., 2017. Manual de métodos de análise de solo Livro técnico (INFOTECA-E). Brasília, DF: Embrapa, 2017. 3. ed. Rev. e Ampl. p. 573.

Tomé JR., J. B. Manual para interpretação de análise de solo. Guaíba: Agropecuária, 1997.

Vieira, V., *et al.*, 2014. Geometric morphometrics of leaves of *Anacardium microcarpum* Ducke and *A. occidentale* L. (Anacardiaceae) from the coastal region of Piauí, Brazil. Braz. J. Bot. 37(3), 315-27. 10.1007/s40415-014-0072-3.

MANUSCRITO II

**PHYTOCHEMICAL PROFILE OF *Anacardium occidentale* L. (CASHEW TREE)
AND THE CYTOTOXIC AND TOXICOLOGICAL EVALUATION OF ITS
BARK AND LEAF EXTRACTS**

**PERFIL FITOQUÍMICO DE *Anacardium occidentale* L. (CAJUEIRO) E
AVALIAÇÃO CITOTÓXICA E TOXICOLÓGICA DOS EXTRATOS DE
CASCA E FOLHAS**

A seguir o manuscrito redigido segundo as normas estruturais e bibliográficas do
periódico **South African Journal of Botany**

Fator de impacto: 1.504

Qualis: B2 em Biodiversidade

Novo qualis: A3 em Biodiversidade

Title: Perfil fitoquímico de *Anacardium occidentale* L.(Cajueiro) e avaliação citotóxica e toxicológica dos extratos da casca e folha

Destaques

- Com a análise dos extratos de folhas e cascas por UPLC-QTOF/MS foi possível detectar a presença de ácidos fenólicos, flavonoides e taninos;
- O extrato da casca apresentou maior atividade citotóxica para as células tumorais;
- Ambos os extratos apresentaram baixa citotoxicidade para células normais;
- Nos ensaios com *D. melanogaster*, não houve alteração dos níveis de tióis protéicos e não protéicos.

Resumo

Anacardium occidentale (Anacardiaceae), conhecida popularmente como cajueiro, é um vegetal nativo da América do Sul, consumido mundialmente no setor alimentício. Suas folhas e cascas são usadas na preparação de chás para manutenção da saúde, sendo indicado em estudos etnobotânicos para o tratamento de câncer, que é considerado um grave problema de saúde pública em todo o mundo. Objetivou-se, com este trabalho, avaliar a citotoxicidade em células tumorais e normais dos extratos das folhas e cascas de *A. occidentale* e também a toxicidade *in vivo* utilizando a mosca da fruta *Drosophila melanogaster*. A citotoxicidade foi realizada através do método do MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazóli] em cinco linhagens de células (HL-60, NCI-H292, HCT-116, P815 e L929). A toxicidade avaliou a taxa de mortalidade e geotaxia negativa das moscas, assim como a investigação dos marcadores do estresse oxidativo (quantificação de Fe^{2+} , tióis protéicos e não protéicos) em modelos de *D. melanogaster*. O estudo cromatográfico foi realizado por UPLC-QTOF/MS. Como resultado, foi possível detectar 11 compostos presentes no extrato das folhas de *A. occidentale* (EFAo) e 6 compostos no extrato da casca (ECAo), sendo o ácido gálico e o galloyl hexosídeo presentes em ambas as amostras. O extrato da casca apresentou maior atividade citotóxica para as células tumorais HCT-116, HL60 e P815. Os extratos também apresentaram baixa citotoxicidade em relação à célula normal, L929. Nos ensaios com *D. melanogaster*, não houve alteração dos níveis de tióis protéicos e não

protéicos (NPSH), já a determinação de níveis de Fe^{2+} em homogeizados das moscas expostas ao extrato das folhas, verificou-se um aumento considerável dos níveis de Fe^{2+} . Contudo, estudos mais aprofundados devem ser realizados para elucidar os mecanismos de ação e avaliação de sua segurança farmacológica.

Keywords: *Anacardium microcarpum*; Antitumoral; LC/MS; Curcumina; *Drosophila melanogaster*.

1. Introdução

O câncer é um dos principais problemas de saúde pública no mundo e vem crescendo consideravelmente nos últimos tempos. De acordo com Bray et al. (2018), ocorreram no mundo 18 milhões de casos novos de câncer e 9,6 milhões de óbitos. O câncer é uma doença complexa caracterizada pelo crescimento desordenado de células com potencial invasivo (INCA, 2019), que surgem a partir de mutações que alteram a expressão gênica e desencadeiam uma série de alterações morfológicas, fisiológicas e genéticas (Sirui Li et al., 2019; Ouyang et al., 2012), tem como consequência uma proliferação descontrolada e resistência à morte celular (Kenny et al., 2007). Dentre os tratamentos utilizados, destaca-se à quimioterapia que consiste no uso de medicamentos, denominados de quimioterápicos.

Tem sido dada considerável atenção à procura de substâncias naturais com capacidade citotóxica, por mecanismos que interfiram na sobrevivência das células tumorais (Sharifi-Rad et al., 2019; Phosrithong; Ungwitayatorn, 2010). No entanto, um fator de fundamental importância na busca de novas moléculas bioativas no tratamento contra o câncer é a seletividade para as células cancerígenas (Luz et al., 2018).

Compostos de origem vegetal tem sido alvo de pesquisas científicas com ênfase em indústrias farmacêuticas, de cosméticos e perfumarias, com crescente importância econômica no mercado (Bursal et al., 2020; Taslimi et al., 2019; Cunha et al., 2015; Köse et al., 2015; Barros et al., 2013). Tal relevância se deve aos vegetais por apresentarem metabólitos secundários, responsáveis pelas suas propriedades biológicas e farmacológicas (Pereira; Cardoso, 2012). Entretanto, o uso indiscriminado de plantas sem qualquer conhecimento fitoquímico, farmacológico e principalmente toxicológico é de grande preocupação para a saúde. Assim, encontrar uma concentração segura e não

letal para células normais, muito menos por mecanismos que possam induzir o estresse oxidativo, constitui-se uma etapa de grande importância.

Neste contexto, ensaios toxicológicos e citotóxicos de produtos vegetais usadas na alimentação e na medicina tradicional são recomendados, uma vez que contribuem para a padronização de produtos fitofarmacêuticos e alimentares (Salehi et al., 2020a; Salehi et al., 2019b; Salehi et al., 2019c; Choodhary e Sekhon, 2011; Arun et al, 2012; Anantha, 2013). Entre as espécies que se apresentam como modelo promissor na pesquisa científica para modelar estudos toxicológicos está a *Drosophila melanogaster*, conhecida como mosca da fruta (Nunes et al., 2019).

Drosophila melanogaster é de fácil manuseio e apresenta um genoma 60% homólogo ao dos seres humanos, sendo que 75% destes genes são causadores de doenças em humanos (Pandey; Nichols, 2011; Narayanan; Rothenfluh, 2016). Fatores como estes, a classifica como modelo alternativo na busca de substâncias promissoras para o mercado farmacêutico e alimentício (Mirzoyan et al., 2019).

Nesse cenário, *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae), conhecida como “cajueiro”, vegetal nativo das regiões tropicais do continente americano, apresenta uma relevância sócio-econômica mundial, isso porque é consumido mundialmente no setor alimentício. O pseudofruto pode ser utilizado na preparação de sucos, doces, passas, sorvetes e licores; as folhas e cascas são preparadas na forma de chás (infusões e/ou decocções) para manutenção da saúde, amplamente utilizados pela população para tratamento de várias enfermidades na medicina popular, dentre elas o tratamento do câncer, úlceras e diabetes (Abubakar et al., 2020; Taiwo et al., 2017; Barbosa-Filho et al., 2015; Ribeiro et al., 2014).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar a citotoxicidade em células tumorais e normais dos extratos das folhas e cascas de *A. occidentale* e também a toxicidade *in vivo* utilizando a mosca da fruta, *D. melanogaster*, avaliando a taxa de mortalidade, geotaxia e marcadores de estresse oxidativo.

2. Materiais e métodos

2.1 Material Botânico

Os materiais vegetais (folhas e cascas) de *A. occidentale*, foram coletados em uma mancha de domínio fitogeográfico “savana”, em meio à chapada do Araripe- Crato, CE, Brasil, sob coordenadas: -7°17’350” S e -39°32’454” W, a 928 m ao nível do mar (Figura 1). Uma exsicata da planta foi selecionada e identificada pelo Prof. Dr. João

Tavares Calixto Júnior, sendo o exemplar da espécie depositado no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima – HCDAL/URCA, sobre a numeração 13.690.

Os pedidos de autorizações para as atividades foram encaminhados aos Órgãos Ambientais: Sistema de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (*SISGEN*) sobre número de registro (A8D43F0) e ao Sistema de autorização do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis- SISBIO (70403-1).

2.2 Preparo dos extratos etanólicos

As folhas (150 g) e cascas (120 g), coletadas no horário de 6h da manhã, foram lavadas em água corrente para remover possíveis requisitos de sujeira, em seguida foram expostas para desidratar e depois, trituradas para diminuir seu tamanho aumentando a superfície de contato com o solvente. Posteriormente, os materiais biológicos foram colocados em frascos de vidro autoclavados, macerados com 1500 mL de etanol a 96% por um período de 72h. No terceiro dia, a suspensão foi filtrada e seca em rotaevaporador sob pressão reduzida (Čopra-Janićijević, 2018). Os extratos preparados foram armazenados em temperatura ambiente até serem testado.

2.3 Análises cromatográficas e análise multivariada

Seguindo os procedimentos de Galvão et al. (2018), a análise foi realizada em um sistema Acquity UPLC (Waters), acoplado a um sistema de Quadrupolo Tempo de Voo (QtoF, Waters) pertencente à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (Fortaleza-CE, Brasil). As amostras foram pesadas e preparadas em acetonitrila (1:1, g/v). As corridas cromatográficas foram realizadas em uma coluna ACQUITY BEH C18 (150 mm × 2,1 mm, 1,7 µm; Waters Co.), onde a coluna tinha uma temperatura ajustada a 40 °C, em um sistema Waters ACQUITY-UPLC com um solvente binário e gerenciador de amostras. A temperatura do amostrador automático foi de 20 °C. As fases móveis continham duas soluções: a primeira com água e 0,1% de ácido fórmico e a segunda com acetonitrila e 0,1% de ácido fórmico, onde o gradiente variava de 2% a 95% entre 0 a 15 min, a taxa de fluxo foi ajustado em 0,4 mL/min e volume de injeção de 5 µL.

O LC-DAD-ESI/MS é um sistema acoplado a um detector de arranjo de diodos (DAD) e um espectrômetro de massa de 500-MS IT (Varian). Os dados expressos pelo UPLC-MS das duas amostras determinadas foram controlados pelo software Masslynx 4.1 (Waters Corporation), para identificar potenciais marcadores químicos discriminatórios dos extratos do *A. occidentale*. Para análise dos resultados considerou-

se os parâmetros de intervalo de tempo entre 1 a 10 min e faixa de massa entre 110-1120 Da.

Os dados eram de grau comparativo com os prescritos na literatura em nível de família botânica. A identificação dos picos foi determinada pelos valores de TR (Tempo de Retenção) em m/z (massa iônica).

2.4 Avaliações da atividade antiproliferativa *in vitro*

2.4.1 *Linhagens celulares*

As linhagens de células foram adquiridas da seção de culturas celulares do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ), mantidas de acordo com o protocolo estabelecido pelo Laboratório de Cultura de Células do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (CCDA- UFPE).

2.4.2 *Manutenção das linhagens celulares*

As linhagens de células utilizadas foram HL-60, NCI-H292, HCT-116, P815, e L929, semeadas em seus respectivos meios de cultura (Tabela 1), suplementados com 10 % de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibióticos: penicilina e estreptomicina. As garrafas de culturas (75 cm²) permaneceram em estufa em temperatura úmida de 37 °C, enriquecida com 5% de CO₂. As células foram manuseadas em ambiente estéril de câmara de fluxo laminar vertical (Filterflux), (LABOVEN, modelo HF-212 UV).

2.4.3 *Ensaio de citotoxicidade – MTT*

Inicialmente, os extratos das folhas e cascas de *A. occidentale* foram testadas em concentração única (50 µg/mL), para avaliação do potencial citotóxico utilizando 4 linhagens celulares tumorais (HL-60, NCI-H292, HCT-116 e P815) e uma célula normal (L929). Nessa triagem (*screening*) inicial, foram consideradas ativas, e, portanto, selecionadas, as amostras que apresentaram percentual de inibição do crescimento celular maior ou igual a 75 % em pelo menos uma das linhagens testadas. Em seguida, os extratos foram testados para a determinação de suas CI₅₀ (concentração capaz de inibir 50 % do crescimento celular), como descrito a seguir.

As células tumorais foram semeadas (1,0x10⁵ células/mL para linhagens aderidas e 0,3x10⁶ células/mL em suspensão) em placas de 96 poços. Em seguida os extratos previamente dissolvidos em DMSO, foram diluídos em série em meio DMEM ou RPMI para obtenção das concentrações (0,39 – 25 µg/mL) e adicionadas nas placas de 96 poços (100 µL/ poço). A curcumina (10 µg/mL) foi utilizada como padrão. Após 72 h de reincubação, foi adicionado 25 µL de MTT (5 mg/mL) e depois de 3 h de incubação,

o meio de cultura com o MTT foram aspirados e 100 µL de DMSO foi adicionado a cada poço. A absorbância foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 560 nm. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas.

2.5 Ensaios com *Drosophila melanogaster*

2.5.1 Cultivo das moscas

As moscas foram mantidas em meio de fubá composto por: 1% p/v de levedura de cerveja, 2% p/v de sacarose, 1% p/v de leite em pó, 1% p/v de ágar e 0,08% p/p de nipagina. Elas foram mantidas em temperatura constante (25 °C) e umidade relativa (60-70%) sob 12 horas de fotoperíodo de luz claro/escuro (Paula et al., 2012, De Oliveira et al., 2019).

2.5.2 Toxicidade por fumigação

Diferentes concentrações de extratos das folhas (EFAo) e da casca (ECAo) de *A. occidentale* (0, 10, 25, 50, 100 g/mL) foram preparadas dissolvidas em etanol a 1% e misturadas na dieta basal das moscas, durante 7 dias de exposição. Os frascos foram mantidos em um ciclo claro/escuro, 25 °C ± 1 °C e 60% de umidade relativa. O experimento foi realizado em triplicata e o número de moscas mortas foram contadas a cada 24 horas até o final do período experimental (7 dias).

2.5.3 Ensaio de geotaxia negativa

A atividade locomotora das moscas foi determinada pelo teste de geotaxia negativa seguindo a metodologia de Coulom e Birman (2004), com adaptações. Após as leituras de mortalidade da seção anterior, as moscas vivas foram colocadas em colunas verticais de vidro separadamente, submetidas à vôos nos frascos. Para as moscas que não ultrapassaram uma altura de 6 cm do frasco em um período de tempo de 5 segundos foi considerada como o extrato sendo ativo. Os ensaios foram repetidos em quintuplicata (cinco vezes) para cada frasco, (n= 20 de moscas por frasco) em intervalos de 5 min e comparados com o controle.

2.5.4 Preparação de homogeneizado de moscas para ensaios bioquímicos

As moscas foram postas à diapausa em gelo, pesadas e homogeneizadas manualmente em tampão de fosfato de potássio 100 mM, pH 7,4 (1 mg: 10 µL, peso: volume) e centrifugado a 10.000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi separado do sedimento e utilizado para a determinação do teor de ferro livre (II), tióis totais protéicos e não proteicos, conforme Nunes et al., (2019). Três experimentos independentes foram realizados para cada teste.

2.5.4.1 Determinação de tióis protéicos (PSH) e tióis não protéicos (NPSH)

Para análise dos níveis de proteína (Tióis proteicos), foram adicionados 50µL do sobrenadante, 150µL de tampão fosfato (pH 7,4) e, em seguida, 10µL de DTNB 5mM (5,50-Ditiobis (ácido 2-nitrobenzólico). As placas foram incubadas por 30 min em temperatura ambiente da luz, e a absorbância medida a 405 nm utilizando um leitor de microplacas. Foi usada a glutatona (GSH) como padrão, e os resultados foram expressos em mol GSH/g de tecido. Para a medição de NPSH (Tióis não proteicos), o sobrenadante obtido foi perdido com volume igual de 10% de ácido tricloroacético (TCA) e centrifugado por 3 min a 10.000 rpm. O sobrenadante foi usado para determinação de NPSH como descrito para o tiol proteico (Da Silva et al., 2018).

2.5.4.2 Determinação de Fe^{2+} nas amostras

Neste ensaio foi medida a intensidade do complexo laranja Fe^{2+} + fenantrolina. A mistura de reação contendo 110µL de solução salina (0,9%), 60µL de Tris-HCl (0,1 M, pH 7,4) e 20µL do sobrenadante, 10µL de 0,25% 1,10-fenantrolina foram adicionados seguido de incubação por 1h à temperatura ambiente (Kamdem *et al.*, 2013). Subsequentemente, a absorbância foi lida a 492 nm e o ferro livre (II) no sobrenadante foi quantificado usando sulfato de ferro (II) para a curva padrão. Os resultados foram expressos em η mol Fe (II)/g de tecido.

2.6 Análise estatística

Os dados obtidos foram expressos como a média \pm SEM (standard error of mean), utilizando o software GraphPad Prism 6.0. Os grupos foram analisados por (one-way) ANOVA, seguido pelo teste de Tukey. O nível de significância foi obtido em $p < 0,05$. O cálculo dos valores de IC_{50} (Concentração capaz de inibir 50%) foi realizado para avaliar a citotoxicidade em regressão não linear.

3. Resultados e discussão

3.1 Composição química

A Figura 2 mostra os cromatogramas de espectrometria de massa de alto desempenho dos extratos das folhas (Fig. 2A) e extrato da casca (Fig. 2B). Os compostos foram identificados com base em sua massa iônica, tempo de retenção, padrão de fragmentação como mostra na Tabela 2. Foi possível detectar 11 compostos presentes no extrato das folhas de *A. occidentale* (EFAo) e 6 compostos no extrato da casca (ECAo), dois não apresentam identificação na literatura (m/z 635.0964 e m/z

449.1309), e dois se mostraram presente em ambas as análises (m/z 169.0133 e m/z 483.0740).

Na família Anacardiaceae, a presença de flavonoides e taninos em vários tecidos da planta é comum, principalmente nas células do epitélio secretor e no mesofilo, (Cunha et al., 2017; Lu et al., 2016; Brito et al., 2007). De forma específica na espécie *A. occidentale* foi evidenciado que na região do mesofilo do parênquima clorofiliano e nas células do epitélio do canal secretor apresentam consideráveis acúmulos de taninos, sendo uma característica da própria espécie para o seu desenvolvimento (Reis et al., 2014). Desta forma os nossos resultados estão em conformidade com os de Galvão et al. (2018), nos quais, ambos os extratos apresentaram diferentes classes de compostos secundários encontrados principalmente como derivados de flavonoides e taninos (hidrolisáveis e condensados), por ligações estratificadas de açúcar, característica de muitos compostos condensados.

Efeitos inversos resultam em fragmentos típicos, que são gerados a partir da quebra de ligação interflavan seguida por rearranjos estruturais produzindo outros compostos típicos (Silva et al., 2017). Por sua vez, a quercetina (m/z 301) é precursor de compostos presentes no extrato da folha e o ácido gálico (m/z 169) precursor na síntese de compostos em ambos os extratos (confirmado com valor de massa equivalente a m/z 169.0137). Sendo fragmento do monogaloil-diglucose (m/z 493.1176), hexosido de ácido gálico-gálico (m/z 483.0740), hexosídeo de tetra-*o'*galooyl (m/z 483.0740) e galato de epicatequina (m/z 441.0838), ambos são flavonoides formados a partir do ácido gálico e uma molécula de açúcar (glicose e/ou hexose). Metabólitos como o próprio ácido gálico e hexosídeo de ácido gálico-gálico se destacam por estarem presentes em ambos os extratos analisados.

Além dos compostos hidrolisáveis já citados, destacamos o dímero de rocianidina do tipo B (m/z 577.1367) como um tanino condensado, caracterizado por apresentar maior resistência à fragmentação (Galvão et al., 2018). Dieta rica em taninos e flavonoides tem sido associada com atividade anticarcinogênica de relevância (Karas et al., 2017, Adzu et al., 2015), no entanto, grandes quantidades podem causar efeito inverso (Monteiro et al., 2005).

3.2 Avaliação da atividade antiproliferativa *in vitro*

Conforme Tabela 3, foi possível avaliar o percentual de inibição do crescimento celular (CI%) dos produtos em linhagens tumorais na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$. Os extratos apresentaram atividade moderada para ambos os extratos analisados (Rodrigues

et al., 2014), sendo a curcumina o composto padrão utilizado nestes ensaios. De acordo com o American National Cancer Institute, um efeito citotóxico de um extrato anticâncer promissor é considerado significativo se exercer $CL_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ (Suffness e Pezzuto, 1990).

Os extratos que apresentaram atividade superior a $\geq 75\%$ (tabela 3) de inibição de crescimento das linhagens celulares foram escolhidos para a determinação da concentração que inibe 50% (CI_{50}) do crescimento em relação ao controle, conforme Tabela 4.

Ao analisar a CI_{50} dos extratos de folhas e cascas de *A. occidentale* contra quatro células cancerígenas representadas na Tabela 4 e Figura 3, observou-se que o extrato da casca mostrou atividade anticâncer promissora nas linhagens tumorais (HL-60, HCT-116 e P815). As células de L929 mostraram uma baixa citotoxicidade nos extratos, enquanto a HCT-116 apresentou maior efeito citotóxico (Tabela 4 e Fig. 3B) para o extrato da casca quando comparado ao grupo controle, curcumina.

Compostos de origem natural podem ser considerados promissores para o desenvolvimento de novos fármacos, isso por que, os mecanismos de ação desses compostos fitoquímicos presentes nas amostras vegetais se dão pela interação com variadas moléculas, destacando as proteínas da membrana celular (Barrett et al., 2017), assim como apresentam propriedades moleculares para induzir apoptose em diferentes células cancerígenas (Raiana et al., 2013, Rajkumar, Guhu e Kumar 2011). Resultados satisfatórios são vistos com a quercetina, um flavonoide típico, que por sua vez pode desenvolver seus mecanismos de ação reduzindo a expressão de genes como H-ras, c-myc e K-ras, e ativando a fosforilação da proteína p53 (Lee et al., 2008; Tanigawa et al., 2008).

Neste estudo, a quercetina (m/z 301), consta como um fragmento precursor na formação de vários compostos presentes nos extratos testados, assim como o ácido gálico (m/z 169.0737) e seus derivados, tanto a quercetina quanto o ácido gálico são relatados como potentes no sequestro de radicais livres, estes radicais são relatados como responsáveis por causarem danos a níveis celulares contribuindo para o surgimento de cânceres (Luz et al., 2018; Locatelli et al., 2012), assim como são validados na literatura como potenciais compostos antitumorais (Luz et al., 2018) isto porque podem estar diretamente relacionados com os mecanismos epigenéticos celulares.

Extratos são misturas complexas, cuja interação de distintos compostos presentes na amostra, em constantes modificações, dependendo das condições ambientais em que o vegetal se encontra, pode potencializar ou retardar a ação de determinados outros constituintes (Galvão et al., 2017), devido a possibilidade de existir correlações que possam alterar sua conformação estrutural, alterando consideravelmente sua bioatividade (Galvão et al., 2017).

Sabendo-se que os compostos isolados apresentam relevante atividade, estudos com a interação destes compostos presentes nestes extratos aqui estudados, podem ser satisfatórios, como por exemplo, a citotoxicidade do extrato da casca que mostrou atividade inibitória contra células tumorais, indicando que os extratos de *A. occidentale* poderiam ser uma alternativa aos medicamentos convencionais ou adjuvantes terapêuticos no câncer. Resultados semelhantes são observados por Al-Hazzani et al. (2012), que avaliou a citotoxicidade do extrato do líquido da castanha de *A. occidentale* contra células de câncer de mama humano, onde observaram que a formulação causou a perda de viabilidade celular, assim como induziu a apoptose e necrose celular de células cancerígenas (CI₅₀ de 88 ± 14,2 µl/ml).

Pouco se sabe quanto à atividade anticancerígena da casca de *A. occidentale*, destes alguns trabalhos corroboram com a nossa hipótese de que compostos vegetais são promissores no tratamento anticancerígeno (Ramosa et al., 2019). Como o trabalho de Barros et al. (2020), testando a goma do caju extraída de *A. occidentale* que demonstrou que a mesma inibiu significativamente o crescimento tumoral em estudos *in vivo*, apresentando cerca de 36,9 a 43% de redução na massa tumoral.

3.3 Toxicidade e marcadores oxidativos com *Drosophila melanogaster*

No ensaio de fumigação representado na Figura 4, observa-se uma redução significativa na sobrevivência das moscas ao longo de 7 dias de exposição na concentração de 100 mg/g, apresentando uma significância de $p < 0.0001$ extratos comparados ao grupo controle. O número de moscas mortas aumentou com o tempo de maneira dependente da concentração, visto que para o extrato da casca notamos uma taxa de 80% de mortalidade (Fig. 4A), comparando-se com o extrato da folha (Fig. 4B), que foi menor (55%) na maior concentração testada.

Conforme demonstrado na Figura 5, foi possível analisar um efeito significativo no ensaio de geotaxia negativa, onde observamos um déficit de 50% no sistema locomotor das moscas tratadas com extratos de folhas de *A. occidentale* quando comparado ao grupo controle (Fig. 5A) em concentrações > 50 mg/g, assim como a

maior concentração (100 mg/g) do extrato da casca (Fig. 5B) visto que a porcentagem de moscas que atingiram o topo da coluna de vidro (6 cm em 5 sec) diminuiu significativamente com o tempo de exposição, como observado nas taxas de mortalidade (Fig. 4).

Nossos resultados demonstraram que altas concentrações de *A. occidentale* proporcionam toxicidade considerável, para células de *D. melanogaster* (>100 mg/mL). Dados semelhantes são observados para a espécie *Anacardium humile*, onde o extrato desta planta provocou mortalidade de 51,85% de ninfas de *Bemisia tuberculata* (Andrade Filho et al., 2010). Este efeito pode ser atribuído ao sinergismo dos compostos químicos presentes nas amostras testadas (Benelli et al., 2012). De acordo com Bezerra et al. (2017) esse efeito no sistema locomotor pode estar relacionado ao aumento de estresse oxidativo.

Considerando que a atividade antioxidante de *A. occidentale*, relatada por Barbosa-Filho et al. (2014), com exibição de uma capacidade significativa de eliminação do radical DPPH e inibição a peroxidação lipídica no cérebro e fígado de ratos, neste trabalho avaliou-se a atividade dos extratos sobre biomarcadores indiretos de estresse oxidativo: tióis protéicos e não protéicos (NPSH), assim como a determinação de Fe^{2+} em homogeneizados de *D. melanogaster* para determinar possíveis efeitos citotóxicos dos extratos por mecanismos de indução de marcadores de estresse oxidativo (glutathiona reduzida e aumento nos níveis de ferro livre).

Os resultados apresentados na Figura 6 revelaram que o tratamento com os extratos não alteraram significativamente os níveis de glutathiona (GSH, um antioxidante encontrado no meio intracelular), quando comparados ao grupo controle, ou seja, em todas as concentrações testadas não houve alteração dos níveis de tióis protéicos (Fig. 6A) e não protéicos (NPSH) (Fig. 6B) nos homogeneizados de *D. melanogaster*. Enquanto que na Figura 7, determinação de níveis de Fe^{2+} , no organismo modelo exposto aos extratos das folhas de *A. occidentale*, verificou-se um aumento nos índices de Fe^{+2} livre nos homogeneizados, quando comparados ao grupo controle, resultado diferente do observado para o extrato da casca, exceto nas maiores concentrações.

Marcadores oxidativos como o excesso de Fe^{2+} livre e GSH são considerados indicativos de toxicidade a nível molecular (Gulçin, 2020; Taslimi and Gulçin, 2018; Gulçin, 2012). De acordo com alguns pesquisadores, um alto nível de íons Fe^{2+} livre e GSH foram detectados em várias doenças, inclusive no câncer (Sang et al., 2019; Dixon, et al., 2014; Liu et al., 2018). Neste contexto, substâncias capazes de quelar o

ferro livre com a finalidade de reduzir sua disponibilidade no meio é de grande interesse (Schneider et al., 2019).

Dados não significativos foram observados com nossos extratos testados, que apesar de exercer boa atividade antioxidante em outros ensaios testados (Barbosa-Filho et al., 2014), não apresentou relevância na atividade de quelação de Fe^{2+} livre. Já a glutatona (GSH), assim como o ferro²⁺ é um composto essencial para a homeostase celular, isso porque, o GSH é um redutor intracelular responsável por desempenhar uma série de atividades importantes no metabolismo celular, bem como proteger as células contra EROs (espécies reativas de oxigênio) e outros compostos que possam vir ocasionar desestabilidade celular (Sapakal et al., 2008). Assim podemos afirmar que os extratos não apresentaram efeito citotóxicos pelos mecanismos de indução da ativação dos tióis, visto que os mesmos não apresentaram aumento significativo nos níveis de GSH.

Estes extratos não contribuem para o aumento de radicais livres, e sim, apresentam potencial antioxidantes como demonstrados por Barbosa-filho et al. (2014), em que o extrato da casca apresenta um potencial antioxidante significativo em modelo testado. Relatos semelhantes são descritos para várias espécies da família Anacardiaceae, como *Lansea stuhlmannii*, *Lansea humili*, *Lansea schweinfurthii* e *Pistacia chinensis* (Adewusi et al., 2011; Rashed; Barret, 2017; Sobeh et al., 2018) espécies promissoras contra radicais livres.

Ensaio citotóxicos, toxicológicos e marcadores de estresse oxidante de produtos vegetais são altamente recomendados, uma vez que faz parte dos procedimentos que contribuem para a padronização de produtos fitofarmacêuticos (Anantha, 2013).

4. Conclusão

O presente estudo comparou perfis fitoquímicos de duas partes distintas (folhas e casca) de *A. occidentale* pela técnica de UPLC-QTOF/MS, e detectou 15 compostos, cuja predominância engloba os flavonoides. Em relação às atividades citotóxicas, ambos os extratos, apresentaram uma moderada atividade para todas as células testadas, não apresentando citotoxicidade para os fibroblastos murinos que são células normais, mostrando certa seletividade de ação. O extrato da casca mostrou-se mais eficaz e menos tóxico em comparação com o extrato da folha.

Quanto à exposição de *Drosophila melanogaster* aos extratos, observou-se uma taxa de mortalidade significativa nas maiores concentrações, assim como uma geotaxia

negativa, quanto aos marcadores oxidativos, não alterou significativamente o conteúdo de tióis totais. Desta forma, é possível afirmar que o extrato não afetou os níveis de tióis da célula, mais sim, outros marcadores, como o aumento dos níveis de ferro²⁺, observado em elevadas concentrações. Neste contexto mais ensaios devem ser realizados para elucidar estes mecanismos de ação.

Declaração de conflito de interesse

Não há conflito de interesse neste estudo

Agradecimentos

O reconhecimento deste trabalho vai para a Universidade Regional do Cariri-URCA, a Universidade Federal de Pernambuco- UFPE e a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Agroindústria Tropical (EMBRAPA-Fortaleza-CE), por todo apoio para a realização dos experimentos, além da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico- FUNCAP, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES por todo o apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Adewusi, E.A., Steenkamp, V., 2011. *In vitro* screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from southern Africa. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 4, 829–835. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60203-4](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60203-4)
- Adzu, B., Balogun, S.O., Pavan, E., Ascêncio, S.D., Soares, I.M., Aguiar, R.W.S., Ribeiro, R.V., Beserra, A.M.S.S., Oliveira, R.G., Silva, L.I., Damazo, A.S., Martins, D.T.O., 2015. Evaluation of the safety, gastroprotective activity and mechanism of action of standardised leaves infusion extract of *Copaifera malmei* Harms. *Journal of Ethnopharmacology* 175, 378–389. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.09.027>
- Al-Hazzani, A., Periyasamy, V., Subash-Babu, P., Alshatwi, A., 2012. Formulation of cashew nut shell liquid (CSNL) nanoemulsion, a potent inhibitor of human MCF-7 breast cancer cell proliferation. *Medicinal Chemistry Research* 21, 1384–1388. <https://doi.org/10.1007/s00044-011-9657-6>

Anantha, N. D., 2013. Approaches to pre-formulation R and D for phytopharmaceuticals emanating from herb based traditional Ayurvedic processes. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine* 4, 4–8.

Andrade Filho, N.N., Roe, A.R., Porto, K.R.A., Souza, R.O., Coelho, R.M., Porte, A., 2010. Toxicity of aqueous extract of *Anacardium humile* leaves on *Bemisia tuberculata*. *Ciência Rural* 40, 1689-1694.

Arun, R., Sravya, R.B., Roja, C.A., 2012. A Review on Standardization of Herbal Formulation. *Phytotherapy Research*. 2, 74-88.

Barbosa-Filho, V.M., Waczuk, E.P., Kamdem, J.P., Abolaji, A.O., Lacerda, S.R., Da Costa, J.G.M., 2014. Phytochemical constituents, antioxidant activity, cytotoxicity and osmotic fragility effects of Caju (*Anacardium occidentale*). *Industrial Crops* 55, 280-8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.021>

Barbosa-Filho, V.M., Waczuk, E.P., Leite, N.F., Menezes, I.R., Da Costa, J.G., Lacerda, S.R., 2015. Phytochemicals and modulatory effects of *Anacardium occidentale* (caju) on antibiotic drugs used in clinical infections. *Drug Design, Development and Therapy* 9, 5965-72.

Barrett, A.H., Farhadi, N.F., Smith, T.J., 2018. Slowing starch digestion and inhibiting digestive enzyme activity using plant flavanols/tannins— A review of efficacy and mechanisms. *Food Science and Technology* 87, 394–399. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.002>

Barros, L., Dueñas, M., Dias, M.I., Sousa, M.J., Santo-Buelga, C., Ferreira, I.C.F.R., 2013. Phenolic profiles of cultivated, in vitro cultured and commercial samples of *Melissa officinalis* L. infusions. *Food Chemistry* 136, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.107>

Barros, A.B., Moura, A.F., Silva, D.A., Oliveira, T.M., Barreto, F.S., Ribeiro, W.L.C., Marinho-Filho, J.D.B., 2020. Evaluation of antitumor potential of cashew gum extracted from *Anacardium occidentale* Linn. *International Journal of Biological Macromolecules* 154, 319-328. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.096>

Benelli, G., Flamini, G., Canale, A., Cioni, P.L., Conti, B., 2012. Toxicity of some essential oil formulations against the Mediterranean fruitfly *Ceratitis capitata*

(Wiedemann) (*Diptera Tephritidae*). *Crop Protection* 42, 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2012.05.024>

Bezerra, J.W.A., Rodrigues, F.C., Costa, A.R., Boligon, A.A., Rocha, J.B.T., Barros, L.M., 2017. Estudo químico-biológico do óleo essencial de *Lantana montevidensis* (chumbinho) (Spreng.) Briq. (Verbenaceae) contra *Drosophila melanogaster*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 22.

Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R.L., Torre, L.A., Jemal, A., 2018. Global cancer statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *Cancer Journal for Clinicians* 68, 394-424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>

Brito, E.S., Araújo, M.C.P., Lin, L.Z., Harnly, J., 2007. Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS. *Food Chemistry* 105, 1112–1118. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.02.009>

Bursal, E., Taslimi, P., Gören, A. C., Gülçin, İ., 2020. Assessments of anticholinergic, antidiabetic, antioxidant activities and phenolic content of *Stachys annua*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 28, 101-111. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101711>

Čopra-Janićijević, A., Čuluma, D., Vidica, D., Tahirović, A., Klepo, L., Bašić, N., 2018. Chemical composition and antioxidant activity of the endemic *Crataegus microphylla* Koch subsp. *malyana* K. I. Chr. & Janjić from Bosnia. *Industrial Crops Products* 113, 75-79. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.016>.

Coulom, H., Birman, S., 2004. Chronic exposure to rotenone models sporadic Parkinson's disease in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Neuroscience* 24, 10993-10998. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2993-04.2004>

Cunha, F.A.B., Wallau, G.L., Pinho, A.I., Nunes, M.E.M., Leite, N.F., Tintino, S.R., Pereira, A.B., 2015. *Eugenia uniflora* leaves essential oil induces toxicity in *Drosophila melanogaster*: involvement of oxidative stress mechanisms. *Toxicological Research* 4, 634–644. <https://doi.org/10.1039/c4tx00162a>

Cunha, A.G., Brito, E.S., Moura C.F., Ribeiro P.R., Miranda M.R., 2017. UPLC-qTOF-MS/MS-based phenolic profile and their biosynthetic enzyme activity used to

discriminate between cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) maturation stages. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 15, 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.02.022>

Da Silva, C.S., De Cássia, G.L.R., Elekofehinti, O.O., Ogunbolude, Y., Duarte, A.E., Rocha, J.B.T., Rocha, J.B.T., Menezes, I.R.A., Barros, L.M., Tsopmo, A., Lukong, K.E., Kamdem, J. P., 2018. Caffeine-supplemented diet modulates oxidative stress markers and improves locomotor behavior in the lobster cockroach *Nauphoeta cinerea*. *Chemico-Biological Interaction* 282, 77-84. <https://doi:282, 77-8410.1016/j.cbi.2018.01.011>

De Oliveira, M.R.C., Barros, L.M., Duarte, A.E., Gabriely, L., Silva, M., Da Silva, B.A.F., Oliveira, B.P.B., Kamdem, J.P., 2019. GC-MS Chemical Characterization and In Vitro Evaluation of Antioxidant and Toxic Effects Using *Drosophila melanogaster* Model of the Essential Oil of *Lantana montevidensis* (Spreng) Briq. *Medicina* 55, 194. <https://doi.org/10.3390/medicina55050194>

Dixon, S.J., Stockwell, B.R., 2014. The role of iron and reactive oxygen species in cell death. *Nature Chemical Biology* 10,9-17.

Galvão, A.W.R., Braz, F.R., Canuto, K.M., Ribeiro, P.R.V., Campos, A.R., Moreira, A.C.O.M., Silva, S.O., Mesquita, F.F.A., Melo, J.J.M.A., Gonçalves, N.G.G., Fonseca, S.G.C., Bandeira, M.A.M., 2018. Gastroprotective and anti-inflammatory activities integrated to chemical composition of *Myracrodruon urundeuva* Allemão - A conservationist proposal for the species. *Journal Ethnopharmacology* 10, 177-189. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.04.024>

Gülçin, İ. (2012). Antioxidant activity of food constituents: An overview. *Archives of Toxicology*, 86(3), 345-391. <https://doi:10.1007/s00204-011-0774-2>

Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods-An updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715". <https://doi:10.1007/s00204-020-02689-3>

Instituto Nacional do Câncer- INCA. 1961.Câncer. <https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer/> (accessed 23 March 2019).

Kamdem, J.P., Adeniranb, A., Boligon, A.A., Klimaczewski, A.C.V.K., Elekofehinti, D.O.E., Hassane, W., Ibrahimg, M., Waczuka, E.P., Meinerz, A.D.F., Athayde, M.L.,

2013. Antioxidant activity, genotoxicity and cytotoxicity evaluation of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) ethanolic extract: Its potential role in neuroprotection. *Industrial Crops and Products* 51, 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.08.056>

Karas, D., Ulrichová, J., Valentová, K., 2017. Galloylation of polyphenols alters their biological activity. *Food and Chemical Toxicology* 105, 223–240. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.021>

Köse, L.P., Gülçin, İ., Gören, A.C., Namiesnik, J., Martinez-Ayala, A.L., Gorinstein, S. 2015. LC–MS/MS analysis, antioxidant and anticholinergic properties of galanga (*Alpinia officinarum* Hance) rhizomes. *Industrial Crops and Products*, 74, 712–721. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.034>

Lee, K.W., Kang, N.J., Heo, Y.S., Rogozin, E.A., Pugliese, A., Hwang, M.K., Dong, Z., 2008. Raf and MEK Protein Kinases are Direct Molecular Targets for the Chemopreventive Effect of Quercetin, a Major Flavonol in Red Wine. *Cancer Research* 68, 946–955. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-3140>

Liu, T., Liu, W., Zhang, M., Yu, W., Gao F., Li, C., 2018. Ferrous-Supply-Regeneration Nanoengineering for Cancer-Cell-Specific Ferroptosis in Combination with Imaging-Guided Photodynamic Therapy. *American Chemical Society* 12, 81-92. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b05860>

Locatelli, C., Filippin-Monteiro, F.B., Creczynski-Pasa, T.B., 2013. Alkyl esters of gallic acid as anti cancer agents: A review. *The European Journal of Medicinal Chemistry* 60, 233–23. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.10.056>

Lu, Z., Nie, G., Belton, P.S., Tang, H., Zhao, B., 2016. Structure-activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives. *Neurochemistry International* 48, 263–274. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2005.10.010>

Luz, L.R., Porto, D.D., Castro, C.B., Silva, M.F.S., De Godoy, A.F.E., Canuto, K.M., De Brito, E.S., Becker, H., Do ó Pessoa, C., Zocolo, G.J., 2018. Metabolomic profile of *Schinopsis brasiliensis* via UPLC-QTOF-MS for identification of biomarkers and evaluation of its cytotoxic potential. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications* 1099, 97-119. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.09.019>

- Mirzoyan, Z., Sollazzo, M., Allocca, M., Valenza, A.M., Grifoni, D., Ballosta, P., 2019. *Drosophila melanogaster*: A Model Organism to Study Cancer. *Frontiers in Genetics* 1, 10-51. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00051>
- Monteiro, J.M., Albuquerque, U.P., Araújo, E.L., Amorim, E.L.C., 2005. Tannis: from chemistry to ecology. *Química Nova* 28, 892-896. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000500029>
- Narayanan, A.S., Rothenfluh, A., 2016. Believe I can fly! Use of *Drosophila* as a model organism in neuropsychopharmacology research. *Neuropsychopharmacology* 41, 39-46. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.322>
- Nunes, S., Pereira, R.G., Elekofehinti, P.S., Fidelis, O.O., Da Silva, K.R., Ibrahim, C.S., Tsopmo, A., 2019. Possible involvement of transcriptional activation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) in the protective effect of caffeic acid on paraquat-induced oxidative damage in *Drosophila melanogaster*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 157, 161-168. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.03.017>
- Ouyang, L., Shi, Z., Zhao, S., Wang, F.T., Zhou, T.T., Liu, B., Bao, J.K., 2012. Programmed cell death pathways in cancer: a review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell Proliferation* 45,487-498. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2012.00845>
- Pandey, U.B., Nichols, C.D., 2011. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological Reviews* 63, 411– 36. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003293>
- Paula, M.T., Zemolin, A.P., Vargas, A.P., Golombieski, R.M., Loreto, E.L., Sidelles, A.P., Picoloto, R.S., Flores, E.M., Pereira, A.B., Rocha, J.B., Merritt, T.J., Franco, J.L., Posser, T., 2012. Effects of Hg (II) exposure on MAPK phosphorylation and antioxidant system in *D. melanogaster*. *Environmental Toxicology* 29, 621–630. <https://doi.org/10.1002/tox.21788>
- Pereira, R.J.E., Cardoso, M.G., 2012. Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology* 3, 146-152.

- Phosrithong, N., Ungwitayatorn, J., 2010. Molecular docking study on anticancer activity of plant-derived natural products. *Medicinal Chemistry Research* 19, 817–835. <https://doi.org/10.1007/s00044-009-9233-5>
- Raina, K., Tyagi, A., Kumar, D., Agarwal, R., Agarwal, C., 2013. Role of oxidative stress in cytotoxicity of grape seed extract in human bladder cancer cells. *Food and Chemical Toxicology* 61,187-95. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.06.039>
- Rajkumar, V., Guha, G., Ashok Kumar, R., 2011. Antioxidant and anti-neoplastic activities of *Picrorhiza kurroa* extracts. *Food and Chemical Toxicology* 49, 36-39. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.11.009>
- Ramos, D.B.M., Araújo, M.T.M.F., Araújo, T.C.L., Neto, O.G.S., Silva, M.G., Silva, Y.A., Torres, D.J.L., Patriota, L.L.S., Melo, C.M.L., Lorenad, V.M.B., Paiva, P.M.G., Mendes, R.L., Napoleão, T.H., 2019. Evaluation of antitumor activity and toxicity of *Schinus terebinthifolia* leaf extract and lectin (SteLL) in sarcoma 180-bearing mice. *Journal of Ethnopharmacology* 233, 148-157. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.01.011>
- Rashed, K., Barreto, M.C., 2017. Biological Activities of Plants used in Egyptian Ethnopharmacology. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 7, 46-50. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2017.70508>
- Reis, A.L.E., Da Silva, D.S., Silva, K.L.F., Das Chagas, D.B., 2014. Caracterização Anatômica e Histoquímica de Raízes e Folhas de Plântulas de *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae). *Revista Arvore* 38, 209-219.
- Ribeiro, D.A., Oliveira, L.G., Macêdo, D.G., Menezes, I. R., Costa, J.G.M., Da Silva, M.A.P., Da Lacerda, S.R., Souza, M.M., 2014. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado área of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 155, 1522–1533. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.07.042>
- Rodrigues, F.A.R., Bomfim, I.S., Cavalcanti, B.C., Pessoa, C., Gonçalves, R.S.B., Wardell, J.L., Wardell, S.S.M.V., Souza, M.V.N., 2014. Mefloquine-oxazolidine derivatives: a new class of anticancer agents. *Chemical Biology & Drug Design* 83, 126-131. <https://doi.org/10.1111/cbdd.12210>
- Salehi, B., Konovalov, D.A., Fru, P., Kapewangolo, P., Peron, G., Ksenija, M.S., Cardoso, S.M., Pereira, O.R., Nigam, M., Nicola, S., Pignata, G., Rapposelli, S.,

Sestito, S., Kumar, N.V.A., Cádiz-Gurrea, M.L., Segura-Carretero, A., Mishra, A.P., Sharifi-Rad, M., Cho, M.C., Taheri, Y., Setzer, W.N., Sharifi-Rad, J., 2020a. *Areca catechu*—From farm to food and biomedical applications. *Phytotherapy Research* 1–19. <https://doi.org/10.1002/ptr.6665>

Salehi, B., Ata, A., Kuma, N.V.A., Sharopov, F., Ramírez-Alarcón, K., Ruiz-Ortega, A., Ayatollahi, S.A., Fokou, P.V.A., Kobarfar, F., Zakaria, Z.A., Iriti, M., Taheri, Y., Martorell, M., Sureda, A., Setzer, W.N., Durazzo, A., Lucarini, M., Santini, A., Capass, R., Ostrander, E.A., Choudhary, M.I., Cho, W.C., Sharifi-Rad, J., 2019b. Antidiabetic potential of medicinal plants and their active components. *Biomolecules* 9(10), 551-672. <https://doi:10.3390/biom9100551>

Salehi, B., Krochmal-Marczak, B., Skiba, D., Patra, J. K., Das, S. K., Das, G., Martorell, M., 2019c. *Convolvulus* plant- A comprehensive review from phytochemical composition to pharmacy. *Phytotherapy Research* 34(2), 315-328. <https://doi:10.1002/ptr.654>

Sang, M., Luo, R., Bai, Y., Dou, J., Zhang, Z., Liu, F., Feng, F., Xu, J., Liu, W., 2019. Mitochondrial membrane anchored photosensitive nano-device for lipid hydroperoxides burst and inducing ferroptosis to surmount therapy-resistant cancer. *Theranostics* 9, 6209-6223.

Sapakal, V.D., Shikalgar, T.S., Ghadge, R.V., Adnaik, R.S., Naikwade, N.S., Magdum, C.S., 2008. *In vivo* screening of antioxidant profile: a review. *Journal of Herbal Medicine And Toxicology* 2, 1–8.

Schneider, T., Gavrilova, I., Budisa, N., 2019. Synthesis of a new metal chelating amino acid: Terpyridyl-alanine. *Tetrahedron Letters* 60, 906–910. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2019.02.037>

Sharifi-Rad, J., Ozleyen, A., Tumer, T.B., Adetunji, C.O., Omari, N.E., Balahbib, A., Taheri, Y., Bouyahya, A., Martorell, M., Martins, N., Cho, W.C., 2019. Natural products and synthetic analogs as a source of antitumor drugs. *Biomolecules* 9(11), 679-731. <https://doi:10.3390/biom9110679>

Silva, G.S., Canuto, K.M., Ribeiro, P.R.V., Brito, E.S., Nascimento, M.M., Zocolo, G.J., Coutinho, J.P., Jesus, R.M., 2017. Chemical profiling of guarana seeds (*Paullinia cupana*) from different geographical origins using UPLC-QTOF-MS combined with

chemometrics. *Food Research International* 102, 700-709.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.055>

Sirui, L., Guo, L., Taofeng, Z., Jili, L., Quanyi, Z., Baoping, Z., Rui, W., Rong, Z., Jing, S., Lu, G., Yang, L., Hong, Z., Bin, L.I.U., 2019. Co-SLD suppressed the growth of oral squamous cell carcinoma via disrupting mitochondrial function. *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology* 47, 1746-1757.
<https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1608218>

Sobeh, M., Mahmoud, M.F., Hasan, R.A., Abdelfattah, M.A.O., Sabry, O.M., Ghareeb, M.A., El-Shazly, A.M., Wink, M., 2018. Tannin-rich extracts from *Lannea stuhlmannii* and *Lannea humilis* (Anacardiaceae) exhibit hepatoprotective activities in vivo via enhancement of the anti-apoptotic protein Bcl-2. *Science Journal Impact Factory* 8, 9343-9349. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27452-8>

Suffness, M., Pezzuto, J.M., 1990. Assays related to cancer drug discovery (Eds. Hostettmann, K.) *Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity*. Academic Press 71-133.

Taiwo, B.J., Fatokun, A.A., Olubiyi, O.O., Bamigboye-Taiwo, O.T., Van Heerden, F.R., Wright, C.W., 2017. Identification of compounds with cytotoxic activity from the leaf of the Nigerian medicinal plant, *Anacardium occidentale* L. (Anacardiaceae). *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 25, 2327–2335.
<https://doi:10.1016/j.bmc.2017.02.040>

Tanigawa, S., Fujii, M., Hou, D.X., 2008. Stabilization of p53 Is Involved in Quercetin-Induced Cell Cycle Arrest and Apoptosis in HepG2 Cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 72, 797–804.

Taslimi, P., Gulçin, İ. (2018). Antioxidant and anticholinergic properties of olivetol. *Journal of Food Biochemistry*, 42(3), 1-12. <https://doi:10.1111/jfbc.12516>

Taslimi, P., Köksal, E., Gören, A.C., Bursal, E., Aras, A., Kılıç, Ö., Alwasel, S., Gülçin, I., 2020. Anti-Alzheimer, antidiabetic and antioxidant potential of *Satureja cuneifolia* and analysis of its phenolic contents by LC-MS/MS. *Arabian Journal of Chemistry* 13(3), 4528-4537. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2019.10.002>

TABLES

Tabela 1. Linhagens celulares utilizadas nos experimentos de citotoxicidade.

Linhagens celulares	Doença	Meio de cultura	(Células/mL)
HL-60	Leucemia promielocítica aguda	RPMI 1640	$0,3 \times 10^6$
NCI-H292	Carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano	DMEM	10^5
HCT-116	Câncer de colón humano	DMEM	10^5
P815	Mastocistoma	RPMI 1640	10^5
L929	Fibroblastos murinos	DMEM	10^5

DMEM- Dulbecco's Modified Eagle Medium (GIBCO®); RPMI 1640- Roswell Park Memorial Institute. HL60- Leucemia promielocítica aguda; NCI-H292- Carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano; HCT116- Câncer de colón humano; P815- Mastocistoma; L929- Fibroblastos murine.

Tabela 2. Compostos fitoquímicos detectados e caracterizados dos extratos de *Anacardium occidentale*. EFAo (Extrato da Folha de *A. occidentale*), ECAo (Extrato da Casca de *A. occidentale*), usando UPLC-DAD / QTOF-MS nos modos de ionização negativa.

Pico n°	Tr Min	[M-H] ⁻ Observada	[M-H] ⁻ Calculada	Produtos Íons (MS/MS)	Fórmula Empírica	Ppm (error)	Nome putativo	Ref.	EFAo	ECAo
1	0.92	683.2258	683.2222	341.1028, 179.0529	C ₄₉ H ₃₂ O ₄	5.3	Hexose polimer	Cunha <i>et al.</i> , 2017		X
2	1.02	493.1176	493.1193	331.0615, 169.0127, 125.0252	C ₁₉ H ₂₅ O ₁₅	-3.4	Monogalloyl-diglucose	Cunha <i>et al.</i> , 2017	X	
3	1.72	169.0133	169.0137	125.0228	C ₇ H ₅ O ₅	-2.4	Gallic acid	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X	X
4	2.01	635.0964	635.0943	169.0100	C ₂₀ H ₂₈ O ₁₂	3.3	NI	Luz <i>et al.</i> , 2018		X
5	2.26	449.1309	449.1295	–	C ₁₈ H ₂₅ O ₁₃	3.1	NI	Luz <i>et al.</i> , 2018	X	
6	2.86	483.0740	483.0775	331.0666, 169.0111	C ₂₀ H ₁₉ O ₁₄	-3.5	Gallic acid-galloyl Hexoside	Galvão <i>et al.</i> , 2018; Luz <i>et al.</i> , 2018	X	X
7	3.19	577.1367	577.1346	407.0675, 289.0739	C ₃₀ H ₂₅ O ₁₂	3.6	B-type rocyanidin Dimer	Galvão <i>et al.</i> , 2018		X
8	3.99	787.0986	787.0994	635.0895, 169.0121	C ₃₄ H ₂₇ O ₂₂	-0.8	Tetra-	Galvão <i>et</i>	X	

							Ogalloylhexoside	<i>al.</i> , 2018; <i>Luz et al.</i> , 2018	
9	4.30	463.0876	463.0877	301.0334, 300.0270	C ₁₂ H ₁₉ O ₁₂	-0.2	Quercetin O-hexoside	Galvão <i>et al.</i> , 2018; <i>Luz et al.</i> , 2018	X
10	4.40	939.1055	939.1104	769.0899, 617.0815	C ₄₁ H ₃₁ O ₂₆	-0.2	Pentagalloylhexoside Isomer	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X
11	4.50	441.0838	441.0822	289.0674; 169.0106; 125.0250	C ₂₂ H ₁₇ O ₁₀	3.4	Epicatechin gallate*	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X
12	4.68	1091.1226	1091.1213	939.1085, 769.0887, 617.0669	C ₄₈ H ₃₅ O ₃₀	1.2	Hexagalloylhexoside	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X
13	5.12	285.0389	285.0399	—	C ₁₅ H ₉ O ₆	-3.5	Luteolin*	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X
14	5.62	599.1026	599.1037	301.0363	C ₂₈ H ₂₃ O ₁₅	-1.8	Quercetin galloyl- O-eoxy-hexoside	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X
15	7.46	537.0810	537.0822	375.0443	C ₃₀ H ₁₇ O ₁₀	-2.2	Agathisflavone	Galvão <i>et al.</i> , 2018	X

Esses compostos foram previamente identificados em várias espécies pertencentes à família Anacardiaceae. Tr: Tempo de retenção; Ref.: Referências; N.I: não identificado.

Tabela 3. Percentual de inibição do crescimento celular (CI%) dos extratos em linhagens tumorais e normal testados na concentração de 50 µg/mL pelo método do MTT após 72 h de incubação.

Amostras	Linhagens Celulares (CI%)				
	HL-60	HCT116	NCI-H292	P815	L929
EFAo	79,39 ± 0,10	88,78 ± 0,17	76,8 ± 0,12	78,06 ± 0,06	34,00 ± 0,06
ECAo	85,32 ± 0,10	91,43 ± 0,10	79,16 ± 0,06	83,38 ± 0,12	33,48 ± 0,06
Curcumina	92,05 ± 0,06	91,91 ± 0,10	93,11 ± 0,40	92,42 ± 0,09	31,48 ± 0,08

EFAo: Extrato das folhas de *Anacardium occidentale*; ECAo: Extrato da casca de *A. occidentale*. Pouca atividade: $\geq 50\%$; moderada atividade: $50 \geq 75\%$; alta atividade: $75 \geq 100\%$. HL-60- Leucemia promielocítica aguda; HCT-116- Câncer de colón humano; NCI-H292- Carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano; P815- mastocistoma e L929- fibroblastos murine.

Tabela 4. Valores da concentração que inibe 50% do crescimento celular (CI₅₀) e o intervalo de confiança (CI 95%) das fases em linhagens tumorais testadas pelo método do MTT após 72 h de incubação.

Amostras	CI ₅₀ (µg/mL) e CI 95%				
	HL-60	HCT116	NCI-H292	P815	L929
EFAo	11,28 (9,26 – 13,73)	10,89 (9,32 – 12,72)	11,08 (6,82 – 17,98)	11,07 (7,81 – 15,67)	> 50
ECAo	9,70 (8,11 – 11,59)	9,44 (6,43 – 13,87)	10,98 (9,429 – 12,79)	9,77 (6,84 – 13,97)	> 50
Curcumina	9,87 (7,15 – 13,54)	9,48 (7,23 – 12,43)	10,27 (6,33 – 16,66)	9,86 (6,67 – 14,57)	> 50

EFAo: Extrato das folhas de *Anacardium occidentale*; ECAo: Extrato da casca de *A. occidentale*. HL-60 - Leucemia promielocítica aguda; HCT-116 - Câncer de colón humano; NCI-H292- Carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano; P815 - Mastocistoma e L929- Fibroblastos murine.

Figures Caption

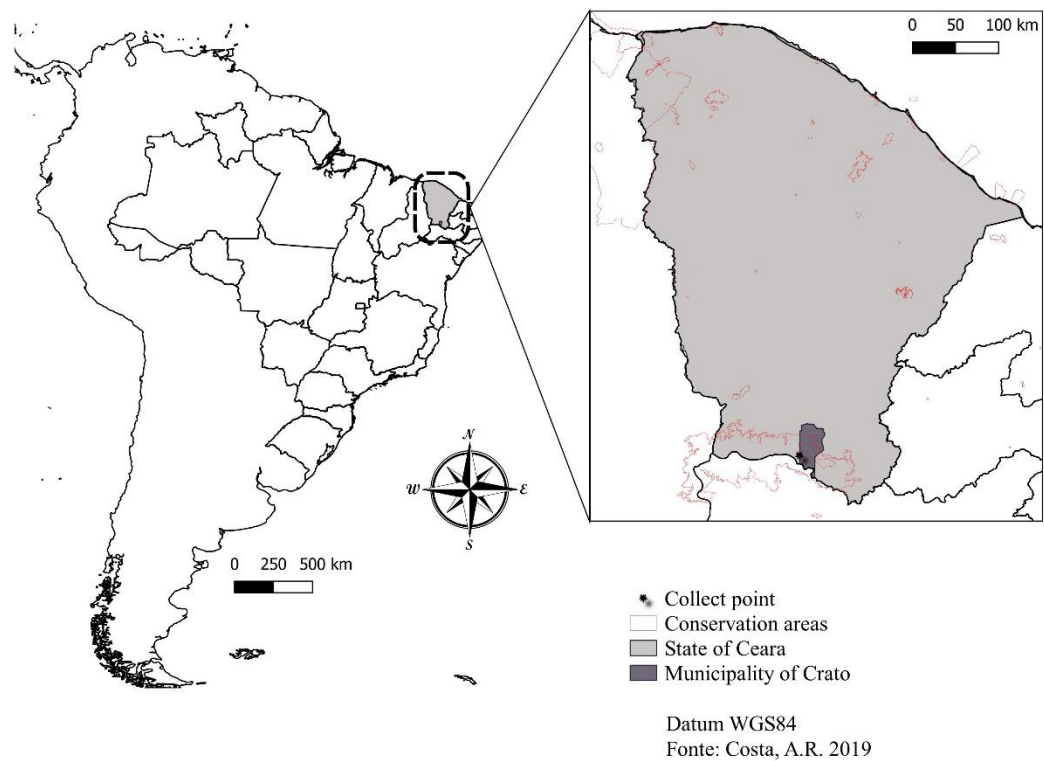
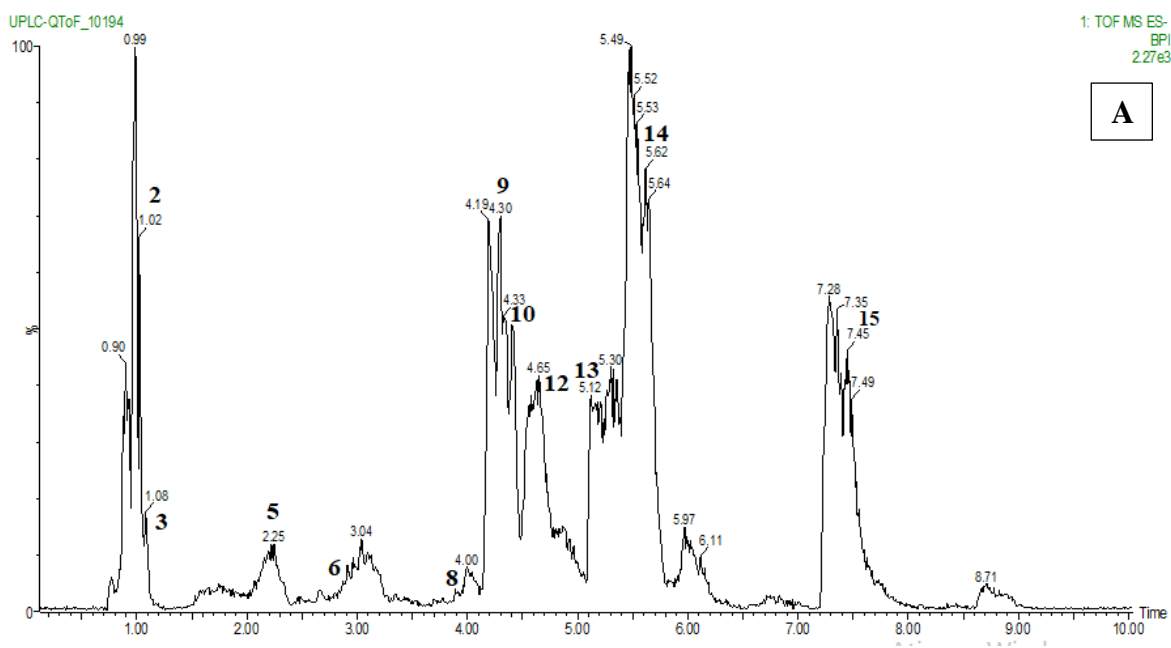


Figura 1. Mapa de localização da coleta de material biológico na área de conservação: Chapada do Araripe, Crato, Ceará, Brasil. Fonte: Costa (2019).



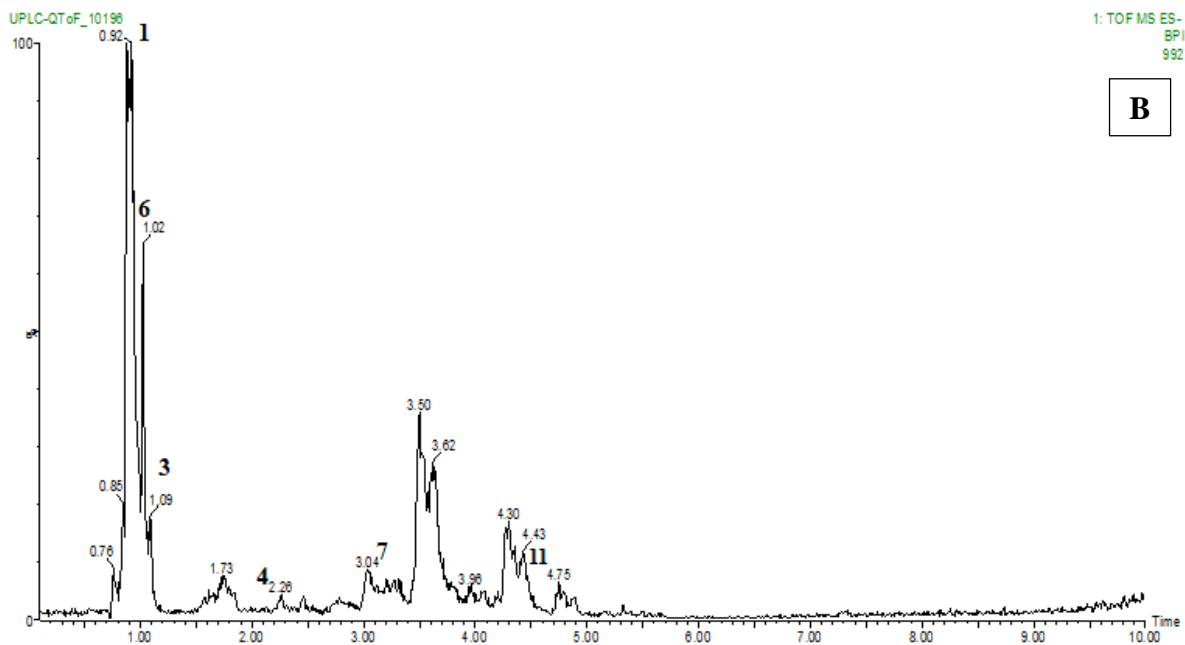


Figure 2. Cromatogramas típicos de intensidade de pico de base (BPI) mostrando os perfis de extratos de folhas (A) e cascas (B) de *A. occidentale* no modo de ionização negativa.

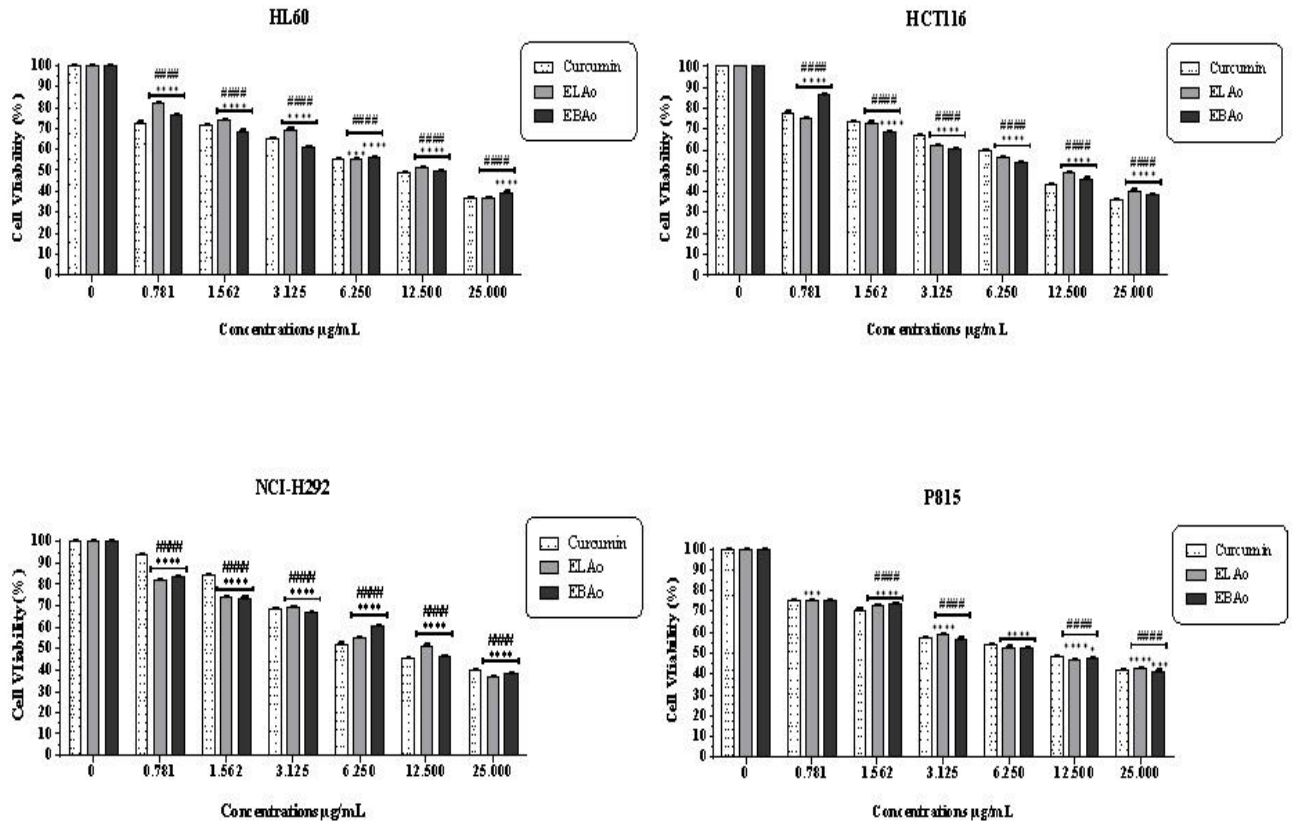


Figura 3. Citotoxicidade do extrato das folhas (ELAo) e cascas (EBAo) de *A. occidentale* e da Curcumina (composto padrão usado). HL-60 (leucemia promielocítica aguda); HCT-116 (câncer de colón humano); NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano); P815 (mastocistoma). * representa diferenças em relação ao grupo controle, # representa diferenças entre os extratos de folhas e cascas *A. occidentale*. ****: $p < 0.0001$; ***: $p < 0.001$; *: $p < 0.1$. #####: $p < 0,0001$; ##: $p < 0,01$.

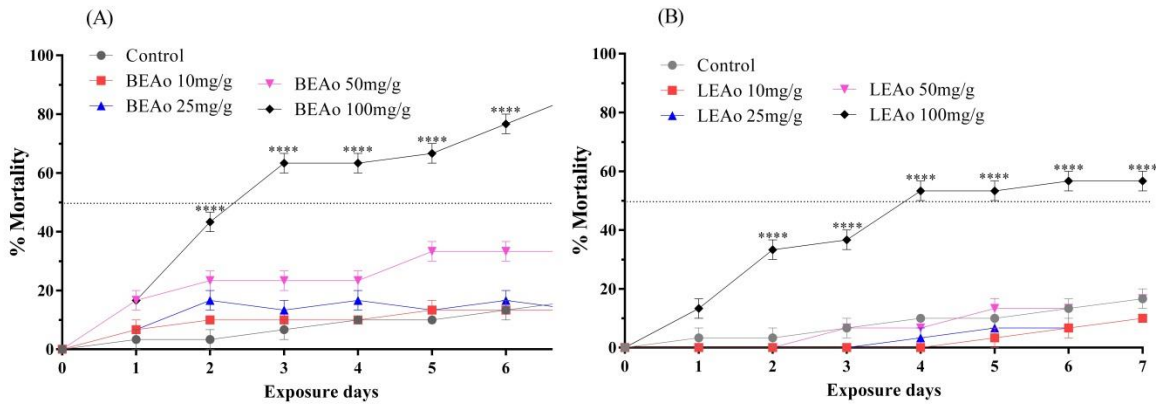


Figura 4. Curva de mortalidade nos 7 dias de exposição, (A) extrato da casca de *Anacardium occidentale* (EBAo) e (B) extratos das folhas de *A. occidentale* (ELAo) contra *Drosophila melanogaster*. **** significa que é diferente quando comparado ao controle ($p < 0.0001$).

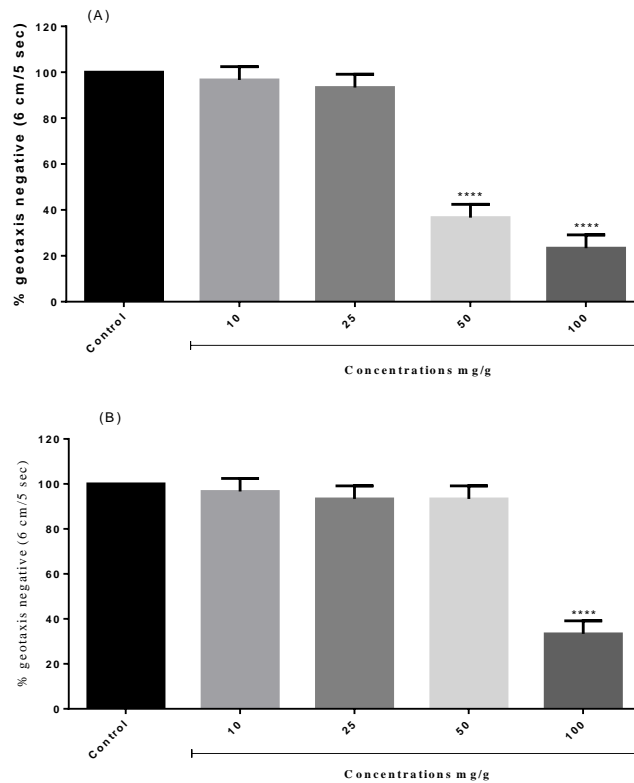


Figura 5. Efeito dos Extratos (A) das folhas de *A. occidentale* e (B) das cascas de *A. occidentale* na atividade locomotora (geotaxia negativa) de *Drosophila melanogaster*. **** valor estatisticamente significativos, com $p < 0.0001$.

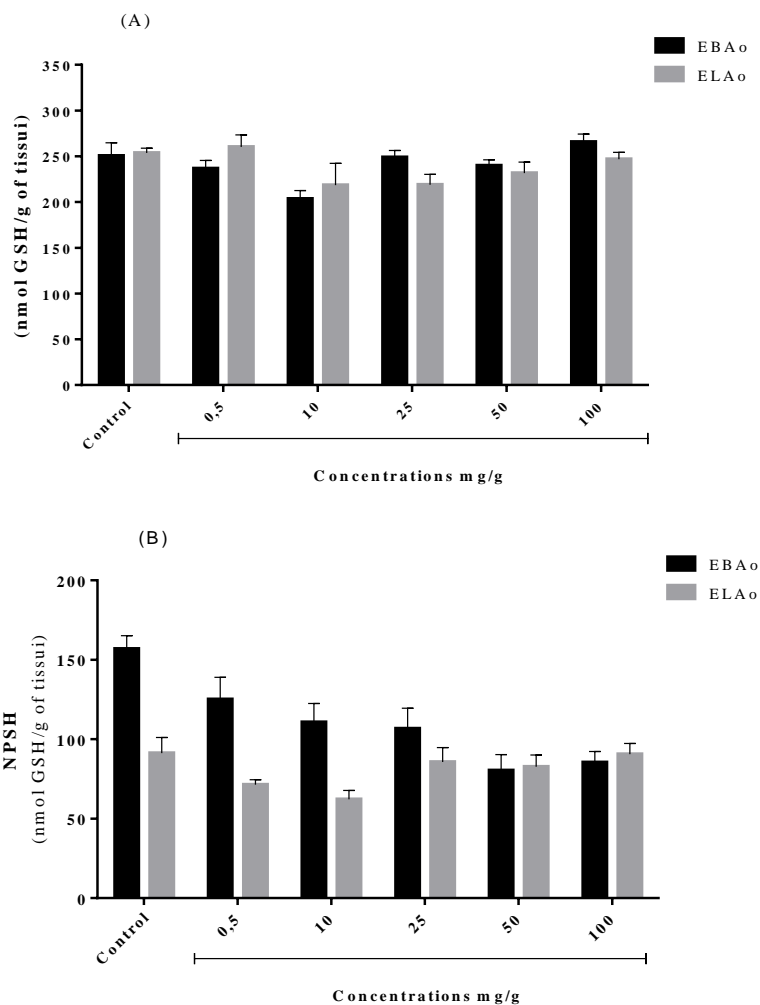


Figura 6. Teor total de tióis protéicos (PSH) (A) e não-protéicos (NPSH) (B) em homogenatos de moscas, tratados com extrato da casca de *A. occidentale* (EBAo) e extrato das folhas de *A. occidentale* (ELAo).

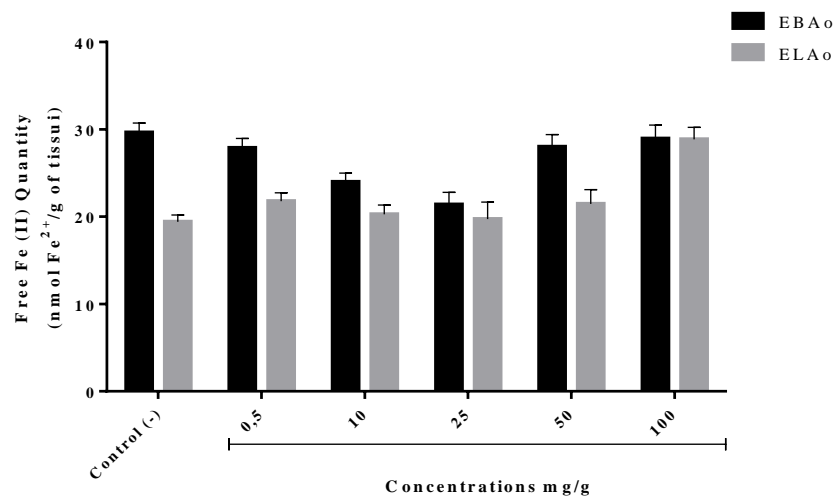


Figura 7. Nível de Fe⁺² livre em homogenatos de moscas, tratados com extrato da casca de *A. occidentale* (EBAo) e extrato das folhas de *A. occidentale* (ELAo).

MANUSCRITO III

**SCIENTIFIC PERSPECTIVES AND ANALYSIS OF *Anacardium occidentale* L.
RESPONSES BASED ON THE SCOPUS DATABASE**

**PERSPECTIVAS CIENTOMÉTRICA E ANÁLISES DE VISUALIZAÇÃO DE
Anacardium occidentale L. COM BASE NO BANCO DE DADOS SCOPUS**

A seguir o manuscrito redigido segundo as normas estruturais e bibliográficas do periódico

Jornal of Informetrics

Fator de impacto: 4.611

Qualis: B1 em Biodiversidade

Perspectivas cientométrica e análises de visualização de *Anacardium occidentale* L. com base no banco de dados Scopus

Resumo

Estudos de cientometria são relevantes para avaliar a estatística do crescimento da pesquisa em uma determinada área e/ou assunto, neste trabalho objetivou-se realizar uma análise cientométrica da produtividade da pesquisa com a espécie vegetal, *Anacardium occidentale*, comercialmente relevante no setor agrícola. Os dados foram analisados usando ferramentas de análise fornecidas pelo banco de dados da Elsevier Scopus. Os dados coletados foram utilizados para gerar recursos específicos, como anos de publicação, filiação, rede de autores e área temática de pesquisa. A parte gráfica utilizou o software Prisma 6 e VOSviewer. O primeiro trabalho publicado com esse nome científico (*A. occidentale*) nos bancos de dados da Scopus se deu inicialmente em 1941 com apenas um único trabalho, aumentando gradualmente seu número de publicações, totalizando 2.030 trabalhos registrados até março de 2020. Entre os trabalhos analisados, 89,5% eram artigos originais publicados nas áreas biológicas, farmacológicas e toxicológicas. Com base na rede de citações, destacam-se os estudos fitoquímicos, antioxidantes, microbiológicos e citotóxicos desse vegetal. Este estudo fornece informações práticas para pesquisadores que trabalham com a espécie *A. occidentale*, visto que pesquisas desta natureza são úteis para que os pesquisadores conduzam suas pesquisas levando a mais publicações com a espécie vegetal.

Palavras-chave: Scopus. Cajueiro. Bibliometria. Anacardiaceae.

INTRODUÇÃO

A cientometria é classificada como um ramo da ciência que estuda a mensuração do progresso da ciência em análises quantitativas e qualitativas, em termos científicos e tecnológicos (Bonilla *et al.* 2015; Silva *et al.* 2011), com estes meios são possíveis construir indicadores para avaliar como está a produção científica em determinadas áreas de

conhecimento à nível regional, nacional e mundial (Silva *et al.* 2011). Nos últimos anos, este tipo de análise têm ganhado consideráveis interesses na comunidade científica, visto que pode fornecer dados das principais tendências que foram publicadas sobre determinado assunto (Krauskopf 2018; Baladi and Umedani 2017).

As avaliações de parâmetros cientométricos são bem-aceitos pela comunidade científica, uma vez que se destacam como uma ferramenta eficiente para avaliar, quantificar e comparar o andamento e a produtividade em uma determinada área ou assunto (Kamdern *et al.* 2015; Inglesi-Lotz and Pouris 2011, Díaz-Faes *et al.* 2015).

Deve-se mencionar que o mecanismo de busca “Scopus” da Elsevier é conhecido como uma das melhores ferramentas disponíveis para análise e rastreamento de artigos publicados (Aghaei Chadegani 2013). Assim, nosso estudo poderia dar uma imagem clara e confiável sobre as características das pesquisas com a espécie *Anacardium occidentale*.

Estudos desta natureza são relevantes para avaliar a estatística do crescimento da pesquisa com a espécie vegetal, *A. occidentale* L. (Anacardiaceae), conhecida popularmente como cajueiro, originária do Brasil, e tem se tornado um alimento consumido mundialmente (Havik *et al.* 2018). A espécie se destaca por apresentar produtos de expressão econômica como “a amêndoa comestível” e o “líquido da casca da castanha”, além do consumo de seu pedúnculo no preparo de sucos e doces, motivos que impulsiona cada vez mais um crescimento significativo da agroindústria de caju (Serrano e Pessoa 2016; Havik *et al.* 2018).

O mesmo se destaca pela exploração de 677.253 h de cajueiro, proporcionando uma produção de 217.062 toneladas de castanhas e 2 milhões de toneladas de pedúnculo por ano. E o Brasil se destaca na exportação com 70% da produção mundialmente (Serrano, Pessoa 2016). Os estudos atuais sobre *A. occidentale*, são cruciais para promover seu uso adequado e identificação das lacunas científicas atuais para impulsionar pesquisas futuras com esta planta, haja vista ser muito utilizada também na medicina tradicional para tratar diversas enfermidades como úlcera, antitumoral, anti-inflamatória e diabetes (Ribeiro *et al.* 2014). Neste contexto foi realizado um levantamento cientométrico em termos de pesquisa científica e tecnológica sobre *A. occidentale*, assim como uma análise de redes de autorias e áreas de pesquisa.

FONTES E MÉTODOS

Parâmetros cientométricos

Um levantamento cientométrico foi realizado para avaliar a produtividade bibliométrica, utilizando bancos de dados de acesso a documentos da ciência, “Elsevier Scopus”. A escolha desta base de dados se deu por apresentar uma alta cobertura multidisciplinar, disponibilizando uma diferente ferramenta de análises cientométricas (Bar-Ilan 2010).

Essa análise foi estabelecida por meio da avaliação de todos os documentos publicados nesta base de dados até março de 2020, fornecendo uma perspectiva representativa e informativa dos dados analisados (Kandem *et al.* 2018). Foram agrupados nas categorias: números de trabalhos publicados no decorrer dos anos, áreas de publicação, documentos por filiações: universidades e países, autores e índice h dos autores (o valor é igual a X se ele tiver X artigos citados pelo menos X vezes). Utilizou-se o software GraphPad Prism versão 6 Para a produção das figuras.

Para a contagem fracionária utilizou-se uma análise gráfica dos dados bibliográficos utilizando o software VOSviewer (www.vosviewer.com/), disponível para construir e visualizar redes cientométricas. Este programa criado por Van Eck and Waltman em 2010, é uma técnica usada para gerar co-ocorrência de termos de título de trabalhos publicados em relação ao tema (Kandem *et al.* 2019). Visto que a co-ocorrências de termos indicam que é o número de vezes que dois termos ocorrem juntos em um conjunto de documentos. Todas as informações necessárias contendo informações de citações como autorias, palavras-chave, resumos e títulos foram selecionados e exportados em arquivo CSV.

Revisões Bibliográficas

Além da Scopus®, outras bases científicas foram analisadas: ScienceDirect®, Web of sciences® e Pubmed®. Após a obtenção dos artigos nas plataformas mencionadas, com critérios de inclusão de artigos originais, dos últimos 10 anos de pesquisa (2010-2020), escritos em inglês e português. Com base na rede de ocorrência do VOSviewer, um levantamento bibliográfico foi realizado e discutido na seção de “discussão”.

RESULTADOS

Ano de publicação e características dos documentos

A tendência das publicações anuais ao longo do tempo é mostrada na Figura 1, onde foi possível observar que o primeiro trabalho publicado com esse nome científico (*Anacardium occidentale*) nos bancos de dados da Scopus se deu inicialmente em 1941 com apenas um único trabalho, aumentando seu número de publicações gradualmente até os anos 2000, a partir deste, o número de artigos publicados por ano aumentou consideravelmente. Totalizamos 2.030 trabalhos registrados no banco de dados, até a data de março de 2020, dando destaque os últimos anos 2000 (de 2010 a 2019). O ano mais produtivo foi 2015 liderando o ranking de publicações com 186 trabalhos, dentre eles, inúmeros dados de relevância para a pesquisa científica. Em contrapartida, foi registrada uma queda nos anos seguintes (2016, 2017, 2018, 2019 e 2020), quando a produção permaneceu com o registro de poucas publicações.

Entre os trabalhos analisados, 89,5% eram artigos originais, 2,6% artigos de revisão e 7,9% trabalhos diversos como trabalhos de conferências, capítulo de livro, erratas e editoria. Entre os artigos, 86% dos documentos foram citados pelo menos uma vez e 14% dos itens não apresentavam qualquer citação.

Países e instituições mais produtivos e influentes das publicações

Como demonstrado na Figura 2, o Brasil lidera o ranking de publicações, com 34,58% de publicações, seguido pela Índia (23,34%) e os Estados Unidos (9,06%). Esse destaque do Brasil e os Estados Unidos podem ser justificados pelo vegetal ser nativo do continente americano, fator que contribui para obtenção do vegetal, uma vez que é muito comum ser encontrada em manchas de Cerrado nas proximidades.

Considerando os países com maiores índices de publicação, é interessante conhecer as Universidades que se destacam com trabalhos envolvendo a espécie *A. occidentale* (Figura 3), a Universidade Federal Ceará (UFC), localizada no estado do Ceará, no Nordeste Brasileiro, lidera com 232 trabalhos publicados. Seguida pela Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuária (EMBRAPA), com destaque a “EMBRAPA- Agroindústria Tropical”, situada na capital do Ceará - Fortaleza, Brasil, com 141 trabalhos, os demais polos desta instituição, distribuídos pelo país, totalizam 79 publicações ao todo.

Perfil dos principais autores produtivos e mais citados

A Figura 4A demonstra a rede de autorias dos trabalhos publicados, para mapear a rede de autores foi usando o software VOSviewer, o número mínimo de documentos publicados por um autor foi considerado 3 documentos. De 425 autores selecionados, o maior conjunto de itens conectados consiste em 139 itens que atingiram esse limite.

Análises de cluster da rede de coautoria de pesquisadores no campo mostraram que esses clusters incluíram 13 grupos em cores diferentes, destes os aglomerados mais importantes são: Cluster 1 (vermelho) com Girrute, J. e Alves, R.E., cluster 2 (Verde-escuro) com Gonçalves, L.R.B, Dias-pini N.S. e De Andrade, I.M, cluster 3 (azul) com Rodrigues S. e Moura C.F.H, cluster 4 (amarelo) com Brito E.S. e Maia G.E., cluster 5 (roxo) Alves, J.A.G. e Silveira J.A.G., cluster 7 (laranja) Cavalcanti, J.J.V, cluster 8 (marrom) com Cardoso J., cluster 10 (rosa-claro) com De Paula R.C. Dos cluster.

A maior densidade (Figura 4B) na rede pertence a Rodrigues S., Cavalcante J.J.V., Cardoso J., Maia G.E, Bezerra M.A., Silveira J.A.G, De Paula R.C., Lima R.C, Freitas, E.R., Pimentel P.G., De Oliveira, V.H, Rossetti A.G., Trivisam M.T.S., Lomanaco, D., De Figueiredo, Pereira A.L.F. e Wasserman R.T.

Os autores com maiores citações foram mantidos e analisados quanto ao seu índice h, total de publicações e citações de seus trabalhos, como demonstrados na tabela 1. O índice h pode ser usado como uma medida da qualidade do desempenho do pesquisador. Do total consideramos apenas os autores que tinha até 12 publicações com a espécie.

Cardoso J., se destaca com 28 trabalhos publicados, seguida por Rodrigues S., com 24, Tyman J.H.P., com 22, Maia G.A. com 21 e Cavalcanti, J.J.V. com 19 trabalhos, na área de agricultura e ciências biológicas, bioquímica, genética molecular, biologia veterinária, imunologia e microbiológica, medicina e engenharia.

Temas mais relatados com a espécie vegetal

A análise referente aos temas de maior destaque são as áreas agrícolas e biológicas conforme Figura 5, em seguida destaca-se a farmacologia e toxicologia, dando destaque aos parâmetros antioxidantes (Barbosa-Filho *et al.* 2015), antimicrobianos (Barbosa-Filho *et al.* 2014), anti-inflamatórios (Vanderlinde *et al.* 2009) e citotóxicos (Barros *et al.* 2020), duas grandes áreas de relevância, visto que, esse vegetal em si, é muito utilizado pela medicina tradicional, com uma variedade de funções terapêuticas, incluindo doenças infecciosas,

inflamação, reumatismo e tumores (Ribeiro *et al.* 2014; Barbosa-Filho *et al.* 2015), e estudos científicos são de extrema importância para comprovar a eficácia dos vegetais no âmbito científico. Na sequência, predomina a área de bioquímica, genética e biologia molecular, e por fim com menos trabalhos publicados a área a ciências ambientais.

A figura 6 representa as palavras de maior destaque nos artigos publicados ao longo dos anos, cada palavra tem um peso, à medida que é muito citada esta diretamente relacionada com a ocorrência de citação, representada pelo tamanho do círculo na imagem. Desse banco de dados, selecionamos as pesquisas de maior citação para discutir cada um.

DISCUSSÃO

No presente estudo, foi realizada uma análise cientométrica das atividades de pesquisa sobre a espécie vegetal *Anacardium occidentale*. Um total de 2.030 produtos científicos extraídos dos bancos de dados da Scopus foram utilizados para o balanço cientométrico. O banco de dados Scopus se destaca por ser uma base de dados confiável, sendo uma das melhores bases para este tipo de pesquisa (Aghaei Chadegani *et al.* 2013). Por fim, nosso estudo propicia uma imagem clara e confiável das características da pesquisa sobre *A. occidentale*.

Nossa descoberta demonstra que há uma tendência crescente a partir dos anos 2000 na publicação de artigos (>80%) sobre a espécie, principalmente na área agrícola e biológica isso porque atualmente há uma crescente produção de híbridos de *A. occidentale*, na produção de melhores hipocarpos para fins comerciais (Crisóstomo *et al.* 2002).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda a avaliação científica de plantas medicinais no âmbito farmacológico e toxicológico, áreas relevantes para suprir a demanda de fármacos mais promissores no tratamento de comorbidades (Saeidnia *et al.* 2013; Kim *et al.* 2007). Essa sugestão pode resultar no aumento da taxa de publicações com esta e outras plantas contribuindo para a padronização de produtos fitofarmacêuticos (Choodhary and Sekhon 2011; Arun *et al.* 2012; Anantha 2013). Visto que, esta é a segunda área de maior publicação de artigos em nossas análises, destacando também respectivamente a bioquímica, genética e biologia molecular. Esses números apresentam a crescente taxa de estudos baseados em evidências sobre fitoterápicos.

Como foram relatadas na rede de ocorrência, as áreas microbiológicas, antioxidante, toxicológicas e citotóxicas são os assuntos mais abordados, com resultados satisfatórios, apresentando assim relevância para a ciência, podendo ser promissores no tratamento de várias doenças. Como, por exemplo, na busca de substâncias promissoras no combate a espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERO e ERN), causadoras de enfermidades, o potencial de vegetais como antioxidantes naturais podem ajudar o organismo a modificar o status oxidativo.

Pesquisadores como Barbosa-Filho *et al.* (2014), evidencia a capacidade de frações da casca desta planta na prevenção contra radicais livre, demonstraram que o CI_{50} (Concentração inibitória de 50% de radicais DPPH) da fração acetato de etila com considerável eficiência ($CI_{50} 27,88 \pm 1,6 \text{ g / mL}$), três vezes maior que o do ácido ascórbico utilizado como referência.

Nos estudos de Tan *et al.* (2014) comparando duas espécies vegetais (*A. occidentale* e *Piper betle*) as folhas frescas de *A. occidentale* excederam consideravelmente a atividade antioxidante de *P. betle*, dados semelhantes são observados pro Rajesh *et al.* (2015) entre *A. occidentale* e *Terminalia catappa* que também se destacou com mesmo potencial observado por Tan *et al.* (2014). Assim como também demonstrou-se ser mais eficiente que outras espécies da sua família botânica: *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* e *Origanum majorana*, significativamente (Chan *et al.* 2012).

Quanto à microbiologia de *A. occidentale*, apresenta considerável atividade, tanto na interação com medicamentos antibacterianos e antifúngicos disponíveis no mercado, quanto como efeito combinatório. Alguns relatos descrevem sua atividade microbiológica, pela ação de interagir com a camada lipídica da membrana externa das bactérias ou com suas proteínas, fazendo com que ocorra ruptura da membrana, contribuindo para a permeabilidade das substâncias com potencial microbiológico, levando a morte celular (Barbosa-Filho *et al.* 2015). Há predominância de estudos sobre a atividade antibacteriana com diferentes cepas Gram-positivas, apresentando melhores resultados, uma vez que a literatura cita as bactérias Gram-negativas como mais resistentes a produtos naturais (Veras *et al.* 2017).

Entretanto, Tan *et al.* (2014) mostraram que as folhas frescas de *A. occidentale* são promissoras na inibição do crescimento de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

testadas. O mesmo autor também destaca que esta atividade pode ser atribuída aos polifenóis, como ácido anacárdico e alquios fenóis (como o cardois), que possuem cadeias laterais com ligações insaturadas, fator que contribuem para a inibição de bactérias Gram-positivas. Dado controverso ao trabalho de Rajesh *et al.* (2015) a qual destaca uma relevante atividade contra *Escherichia coli* (cepa Gram-negativa) com uma zona de inibição de 18 mm em comparação com as outras cepas testadas.

Quanto ao potencial antifúngico e antiprotozoários há poucos trabalhos relatados na literatura. Destes, destacamos o trabalho de Santos *et al.* (2011), que ao avaliar cinzas do bagaço de *A. occidentale* contra *Fusarium oxysporum*, *F. moniliforme* e *F. lateritium* relata seu potencial fúngico mais relevante que o grupo controle Cercobin® (tiofanato metílico), na capacidade de suprimir o crescimento destes fungos, além de demonstrar baixa toxicidade. Sendo possível afirmar seu potencial promissor como antifúngico. Dados diferentes foram observados com *Candida albicans*, onde o extrato foliar de *A. occidentale* contra *C. albicans* foi fraco em comparação à Clorexidina (fármaco controle), demonstrando baixa atividade antifúngica (Vasudev *et al.* 2015).

Não somente as misturas complexas de *A. occidentale* são testadas, mais sim compostos isolados que são extraídos dos órgãos desta planta, como o cardanol, que se apresentou com potencial promissor contra *C. albicans* (Mahata *et al.* 2014).

No trabalho de Barros *et al.* (2020), testando a goma do caju extraída de *A. occidentale*, demonstrou inibição significativa do crescimento tumoral em estudos *in vivo*, apresentando cerca de 36,9 a 43% de redução. O mesmo trabalho não apresentou toxicidade para os órgãos e tecidos do animal, também não apresentou citotoxicidade *in vitro* para células saudáveis, assim como não alterou os níveis de marcadores oxidativos. Abordando assim o potencial na atividade anticancerígena dessa planta. Resultados semelhantes foram observados por Al-Hazzani *et al.* (2012), avaliando a citotoxicidade do líquido da castanha utilizando nanotecnologia contra células de câncer de mama humano, onde demonstrou que a formulação causou a perda de viabilidade celular, assim como induziu a apoptose e necrose celular de células cancerígenas (IC_{50} de $88 \pm 14,2 \mu\text{l/ml}$).

Os compostos bioativos, também conhecidos de fitoquímicos, são os responsáveis por todo o potencial vegetal na saúde humana, além das funções biológicas que exercem para os vegetais que os produzem como forma adaptativa a sua sobrevivência, reprodução e

desenvolvimento, apresentam elevada importância como matéria-prima industrial e medicinal (Mubofu *et al.* 2018). Estes compostos são identificados por diferentes técnicas cromatográficas e classificados de acordo com sua estrutura química em diferentes classes e subclasses químicas (Simões 2016). Como, por exemplo, os flavonoides que apresentam uma estrutura química que se resume em apresentar pelo menos um anel aromático no qual ao menos um hidrogênio é substituído por um grupo hidroxila.

Os flavonoides são a classe mais estudada na pesquisa científica, isto porque, apresentam atividades biológicas de grandes aplicações nas indústrias farmacêuticas, devido às propriedades farmacológicas de relevância, os compostos fenólicos (subclasse dos flavonoides) apresentam uma diversidade de atividades biológicas, como, por exemplo, o ácido elágico, que tem sido efetivo na prevenção do desenvolvimento do câncer (Castonguay *et al.* 1990), assim como o ácido cafeico e ácido clorogênico que apresentam atividades anti-inflamatórias, imunomoduladoras e microbiológica de relevância (Choi *et al.* 2015; Oksinska *et al.* 2013; Prasad *et al.* 2011). Ambos sempre são citados em análises fitoquímicas de *A. occidentale*.

O ácido clorogênico é descrito como o éster do ácido cafeico e ácido químico e a absorção desses ácidos podem levar a efeitos biológicos na circulação sanguínea (Sato *et al.* 2011). Já a quercetina e ácido gálico apresentam consideráveis relatos quanto ao seu potencial farmacológico.

Os principais componentes majoritários do caju são ácido anacárdico (60 a 70%), cardol (20 a 25%), cardanol (10%) e pequenas quantidades de 2-metilcardol (Lopez *et al.* 2012; Paramshivappa *et al.* 2001). Estes compostos além da *A. occidentale* são relatados em amostras de diferentes espécies do gênero *Anacardium*, em diferentes partes dos vegetais (Bastos *et al.* 2016).

O ácido anacárdico, classificado como um ácido fenólico é citado na literatura como composto majoritário da castanha de *A. occidentale*, isso porque em muitas análises sempre se apresenta em maiores porcentagens, geralmente com mais de 80% deste ácido (Tedong *et al.* 2010; Agostini-Costa *et al.* 2003), apresentando um grau de instauração de mais de 90% em sua cadeia lateral C15, ainda que em menor proporção pode conferir irritabilidade em contato com a pele e mucosas. É importante ressaltar que monômeros deste ácido é precursor acrilato, anacardanil e macrilado de anacardanil (Philip *et al.* 2007). A

descarboxilação através do aquecimento do ácido anacárdico dá origem ao cardanol e cardol.

Estes são os principais componentes depois do ácido anacárdico. Apresentando uma estrutura semelhante à do ácido anacárdico, por ter uma segunda hidroxila no anel aromático e são separados por destilação sob pressão reduzida (ca. 10 mmHg), (Lopez *et al.* 2012). Esses dois compostos possuem diversas aplicações na ciência farmacêutica e biológica, tais como atividade antioxidante, larvicida e antibacteriana (Osmari *et al.* 2015; Andrade *et al.* 2011).

A maioria dos estudos foi publicada em periódicos internacionais de grande valor acadêmico, com $IF > 2$ e $SJR > 1$, podendo afirmar que os documentos desse campo são publicados em periódicos de alta qualidade. Esses achados mostram a importância mundial dessa espécie vegetal para a pesquisa científica. Quanto à filiação a maioria dos artigos era do Brasil (677 artigos). Os outros três principais países foram Índia (460 artigos), Estados Unidos (180 artigos) e Nigéria (159 artigos). Esses números mostraram a tendência crescente dos estudos publicados nesse campo, tanto nos países desenvolvidos quanto nos em desenvolvimento. A principal colaboração e potência mundial em termos de publicações internacional no campo pertencem aos Estados Unidos, apesar de o Brasil liderar com esta planta. Além disso, apenas uma pequena porcentagem dos documentos não foi publicada no idioma inglês.

Quanto à densidade, aborda a importância dos trabalhos e colaboração entre pesquisadores, ilustrando a importância do nó na rede de coautoria de autores. Sabendo-se que as coautorias são as formas mais tangíveis de colaboração em pesquisa (Giuliani *et al.*, 2010). A parceria e diversidade mundial de autores que escrevem em uma determinada área e assunto são importantes para formar o sistema global de produção de conhecimento, destacando a importância às redes de coautoria (Giuliani, *et al.* 2010; Zare-Farashbandi, *et al.* 2014). Assim a produção científica, em termos gerais de números, tanto de trabalhos quanto os aspectos de citações são afetados positivamente por filiações, centros, universidades e outros.

CONCLUSÕES

Essa análise cientométrica indicou um crescimento significativo das pesquisas com a espécie *A. occidentale* ao longo destes 78 anos, cujos resultados demonstraram que o Brasil obteve o maior número de publicações. O Software de visualização de semelhanças (VOSviewer) revelou uma forte colaboração entre os autores mais produtivos e citados, assim como os temas mais recorrentes. Pesquisas na área de fitoquímica sobressaíram-se como o principal assunto abordado, abrangendo os compostos majoritários da espécie (ácido anacárdico, cardol e cardanol), e as áreas (agrícolas, farmacológicas e toxicológicas).

Os resultados desta análise cientométrica mostraram produtividade promissora de publicações científicas sobre *A. occidentale*. Dada à importância de contribuir com o conhecimento científico, dados como estes podem subsidiar novas pesquisas e incentivar o desenvolvimento de estudos com este vegetal.

Declaração de conflito de interesse

Não há conflito de interesse neste estudo

Agradecimentos

O reconhecimento deste trabalho vai para a Universidade Regional do Cariri-URCA, Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico Tecnológico-FUNCAP, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- CNPQ e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES por todo o apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

- Aghaei Chadegani, A., Salehi, H., Yunus, M. M., Farhadi, H., Fooladi, M., Farhadi, M., & Ebrahim, N. A. (2013). A Comparison between Two Main Academic Literature Collections: Web of Science and Scopus Databases. *Asian Social Science*, 9(5), 18-26.
- Agostini-Costa, T. S., Jales, K. A., Abreu, L. N., Rossetti, A. G., Silveira, E. R. (2003). Determinação de ácido anacárdico em pedúnculos de caju. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*. (2),77-81.
- Al-Hazzani, A., Periyasamy, V., Subash-Babu, P., & Alshatwi, A. A. (2011). Formulation of cashew nut shell liquid (CSNL) nanoemulsion, a potent inhibitor of human MCF-7 breast cancer cell proliferation. *Medicinal Chemistry Research*, 21(7), 1384–1388.
- Anantha, N. D., (2013). Approaches to pre-formulation R and D for phytopharmaceuticals emanating from herb based traditional ayurvedic processes. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*. 4, 4-8.
- Andrade, T. de J. A. dos S., Araújo, B. Q., Citó, A. M. das G. L., da Silva, J., Saffi, J., Richter, M. F., & Ferraz, A. de B. F. (2011). Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). *Food Chemistry*, 126(3), 1044–1048.
- Arun, R., Sravya, R. B., Roja, C. (2012). A review on standardization of herbal formulation. *International Journal of Phytotherapy*. 2(2), 74-88.
- Baladi, Z. H., & Umedani, L. V. (2017). Pakistan Journal of Medical Sciences: A bibliometric assessment 2001-2010. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 33(3).
- Barbosa-Filho, V. M. B., Waczuk, E. P., Kamdem, J. P., Abolaji, A. O., Lacerda, S. R., da Costa, J. G. M., ... Posser, T. (2014). Phytochemical constituents, antioxidant activity, cytotoxicity and osmotic fragility effects of Caju (*Anacardium microcarpum*). *Industrial Crops and Products*, 55, 280–288.
- Barbosa-Filho, V. M., Waczuk, E. P., Leite, N. F., Menezes, I. R., da Costa, J. G. M., Lacerda, S. R., Adedara, I. A., Coutinho, H. D. M., Posser, T., Kamdem, J. P., (2015). Phytochemicals and modulatory effects of *Anacardium microcarpum* (caju) on antibiotic drugs used in clinical infections. *Drug Design, Development and Therapy*, 596.
- Bar-Ilan, J. (2010). Citations to the “Introduction to informetrics” indexed by WOS, Scopus and Google Scholar. *Scientometrics*, 82(3), 495–506.
- Barros, A. B., Moura, A. F., Silva, D. A., Oliveira, T. M., Barreto, F. S., Ribeiro, W. L. C., ... Marinho-Filho, J. D. B. (2020). Evaluation of antitumor potential of cashew gum extracted from *Anacardium occidentale* Linn. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.03.096.

- Bastos, F., & Tubino, M. (2017). The Use of the Liquid from Cashew Nut Shells as an Antioxidant in Biodiesel. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(5), 747-755.
- Bonilla, C. A., Merigó, J. M., & Torres-Abad, C. (2015). Economics in Latin America: a bibliometric analysis. *Scientometrics*, 105(2), 1239–1252.
- Chan, E. W. C.; Kong, L. Q.; Yee, K. Y.; Chua, W. Y.; Loo, T. Y. (2012). Antioxidant and antibacterial properties of some fresh and dried Labiatae herbs. *Free Radicals and Antioxidants*, 2(3): 20-27.
- Choi, J.-H., Roh, K.-H., Oh, H., Park, S.-J., Ha, S.-M., Kang, M. S., Lee, J.-H., Jung, S. Y., Song H., Yang, J. W., Park, S (2015). Caffeic acid phenethyl ester lessens disease symptoms in an experimental autoimmune uveoretinitis mouse model. *Experimental Eye Research*, 134, 53–62.
- Choudhary N, Sekhon BS. (2011). An overview of advances in the standardization of herbal drugs. *Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 2(2), 55-70.
- Crisóstomo, J. R; Cavalcanti, J. J. V.; Barros, L. M.; Alves, R. E.; Freitas, J. G.; Oliveira, J. N. (2002) Melhoria do cajueiro-anão-precoce: avaliação da qualidade do pedúnculo e a heterose dos seus híbridos. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 24(2), 477-480.5.
- Díaz-Faes, A. A., Costas, R., Galindo, M. P., & Bordons, M. (2015). Unravelling the performance of individual scholars: Use of Canonical Biplot analysis to explore the performance of scientists by academic rank and scientific field. *Journal of Informetrics*, 9(4), 722–733.
- Giuliani, F., De Petris, M. P., & Nico, G. (2010). Assessing scientific collaboration through coauthorship and content sharing. *Scientometrics*, 85(1), 13–28.
- Havik, P., Monteiro, F., Catarino, S., Correia, A., Catarino, L., & Romeiras, M. (2018). Agro-Economic Transitions in Guinea-Bissau (West Africa): Historical Trends and Current Insights. *Sustainability*, 10(10), 3408.
- Inglesi-Lotz, R., & Pouris, A. (2011). Scientometric impact assessment of a research policy instrument: the case of rating researchers on scientific outputs in South Africa. *Scientometrics*, 88(3), 747–760.
- Kamdem, J. P., Abolaji, A. O., Roos, D. H., Calabró, L., Barbosa, N. V., Souza, D. O., & Rocha, J. B. T. (2016). Scientific Performance of Brazilian Researchers in Pharmacology with grants from CNPq: A comparative study within the Brazilian categories. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 28, 1735–1742.
- Kamdem, J. P., Duarte, A. E., Lima, K. R. R., Rocha, J. B. T., Hassan, W., Barros, L. M., ... Tsopmo, A. (2019). Research trends in food chemistry: A bibliometric review of its 40 years anniversary (1976–2016). *Food Chemistry*, 294, 448–457.

Kamdem, J. P., Fidelis, K. R., Nunes, R. G. S., Araujo, I. F., Elekofehinti, O. O., da Cunha, F. A. B., ... Barros, L. M. (2017). A Comparative research performance of top Universities from the Northeastern Brazil on three pharmacological disciplines as seen in Scopus Database. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 12, 483–491.

Kamdem, J. P., Roos, D. H., Sanmi, A. A., Calabró, L., Abolaji, A. O., de Oliveira, C. S., Barros, L. M., Duarte, A. E., Barbosa, N. V., Souza, D. O., Rocha, J. B. T. (2018). Productivity of CNPq Researchers from Different Fields in Biomedical Sciences: The Need for Objective Bibliometric Parameters—A Report from Brazil. *Science and Engineering Ethics*. doi:10.1007/s11948-018-0025-5.

Kim, J.-D., Kang, S.-M., Park, M.-Y., Jung, T.-Y., Choi, H.-Y., & Ku, S.-K. (2007). Ameliorative Anti-Diabetic Activity of Dangnyosoko, a Chinese Herbal Medicine, in Diabetic Rats. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 71(6), 1527–1534.

Krauskopf, E. (2018). A bibliometric analysis of the Journal of Infection and Public Health: 2008–2016. *Journal of Infection and Public Health*, 11(2), 224–229.

López, C. A. A., Lima, K. R. S., Manno, M. C., Tavares, F. B., Fernandes Neto, D. L., Jesus, M. L. C., Viana, M. A. O., Fonseca, L. A. B. (2012). Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(4), 1027–1035.

Mahata, D., Mandal, S. M., Bharti, R., Gupta, V. K., Mandal, M., Nag, A., & Nando, G. B. (2014). Self-assembled cardanol azo derivatives as antifungal agent with chitin-binding ability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 69, 5–11.

Mubofu, E. B., & Mgaya, J. E. (2018). Chemical Valorization of Cashew Nut Shell Waste. *Topics in Current Chemistry*, 376(2).

Oksinska, M. P., Pietr, S. J., & Wright, S. A. I. (2013). Resistance to oxidation products of caffeic acid is important for efficient colonization of wheat seedlings by *Pseudomonas proteolytica* strain PSR114. *Applied Soil Ecology*, 66, 71–80.

Osmari, M. P., Matos, L. F., Salab, B. L., Diaz, T. G., Giotto, F. M. (2015). Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidades na produção animal. *Pubvet*, 9(3), 143-149.

Paramashivappa, R., Kumar, P. P., Vithayathil, P. J., & Rao, A. S. (2001). Novel Method for Isolation of Major Phenolic Constituents from Cashew (*Anacardium occidentale L.*) Nut Shell Liquid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2548–2551.

Philip, J. Y. N., Buchweishaija, J., Mkyula, L. L., & Ye, L. (2007). Preparation of Molecularly Imprinted Polymers Using Anacardic Acid Monomers Derived from Cashew Nut Shell Liquid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(22), 8870–8876.

Prasad, N. R., Karthikeyan, A., Karthikeyan, S., & Reddy, B. V. (2011). Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 349(1-2), 11-19.

Rajesh B.R, Potty V.P, Prabha Kumari C, Miranda M.T.P, Sreelekshmy S.G. (2015). Antioxidant and antimicrobial activity of leaves of *Terminalia catappa* and *Anacardium occidentale*: A comparative study. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 4(1), 79-82.

Ribeiro, D. A., Oliveira, L. G. S. de, Macêdo, D. G. de, Menezes, I. R. A. de, Costa, J. G. M. da, Silva, M. A. P. da, Souza, M. M. de A. (2014). Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado area of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(3), 1522–1533.

Saeidnia, S., & Abdollahi, M. (2013). Toxicological and pharmacological concerns on oxidative stress and related diseases. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 273(3), 442–455.

Santos, R. P., Marinho, M. M., Sá, R. A., Martins, J. L., Teixeira, E. H., Alves, F. C. S., Ramos, V. S. C., Sousa, G. S., Cavada, B. S. & Santos, R.P. (2011). Compositional analysis of cashew (*Anacardium occidentale* L.) peduncle bagasse ash and its in vitro antifungal activity against *Fusarium* species. *Revista brasileira de Biociências*, 9(2), 200-205.

Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M., Iseki, K. (2011). *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 403(1-2), 136–138.

Serrano, L. A. L., Pessoa, P. F. A. P. Aspectos econômicos da cultura do cajueiro. (2016). In Sistema de produção do caju, 2.ed. *Embrapa Agroindústria Tropical*. AR_sistemasdeproducao1f6_1galceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column2&p_p_col_count=1&p_r_p_76293187_sistemaProducaoId=7705&p_r_p_-996514994_topicoId=10308.

Silva, J. A.; Bianchi, M. L. P. (2011). Cientometria: a métrica da ciência. *Paidéia (Ribeirão Preto)*. 11(21): 5-10a.

Silva, R. M.; Hayashi, C. R. M.; Hayashi, M. C. P. I. (2011) Bibliometric and scientometric analyses: challenges for specialists working in the field. *In CID: R. Ci. Inf. e Doc., Ribeirão Preto*. 2(1):110-129b.

Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; De Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. *Farmacognosia: do produto natural ao medicamento*. Artmed Editora. 2016.

Tan, Y. P., & Chan, E. W. C. (2014). Antioxidant, antityrosinase and antibacterial properties of fresh and processed leaves of *Anacardium occidentale* and *Piper betle*. *Food Bioscience*, 6, 17–23.

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

Van Eck, N. J., & Waltman, L. (2010). Software survey: VOSviewer, a computer program for bibliometric mapping. *Scientometrics*, 84(2), 523–538.

Vanderlinde, F. A., Landim, H. F., Costa, E. A., Galdino, P. M., Maciel, M. A. M., Anjos, G. C. dos, ... Rocha, F. F. da. (2009). Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale* L. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(3), 437–442.

Vasudev B. N., Prakash, P. Y., Saraswathi, M. V., & Bhat, K. S. (2013). Evaluation of antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* leaves against enterococcus faecalis and *Candida albicans*. *International Journal of Clinical Dentistry*, 6(2), 113-120.

Veras, H. N. H., Rodrigues, F. F. G., Botelho, M. A., Menezes, I. R. A., Coutinho, H. D. M., & Costa, J. G. M. (2017). Enhancement of aminoglycosides and β -lactams antibiotic activity by essential oil of *Lippia sidoides* Cham. and the Thymol. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2790–S2795.

Zare-Farashbandi F, Geraei E, Siamaki S. Study of coauthorship network of papers in the Journal of Research in Medical Sciences using social network analysis. (2014). *Journal of Research in Medical Sciences*, 19(1):41–6.

Tabelas

Tabela 1. Autores mais produtivos e influentes que trabalharam com *Anacardium occidentale* entre 1941 e 2020.

Autores	TP	TC	Índice h
Cardoso J.	28	270	10
Rodrigues S	24	3942	34
Tyman J.H.P.	22	2086	23
Maia G.A	21	880	13
Cavalcanti J.J.V	19	175	7
Sathe S.K.	19	7402	47
Kubo L	16	11721	60
Raux K.H	16	8082	45
Aliyu O.M.	15	276	9
Viana F.M.P.	15	176	8
Silveira J.A.G.	14	3161	31
Alves R.E.	13	1623	16
Gonçalves L.R.B.	13	2925	33
Feitosa J.P.A	12	2894	32
Ferreira-Silva S.L.	12	987	16

O índice h e a citação aqui são aplicados à publicação geral do autor. TP: Total de publicações com a espécie; TC: Total de citações.

Figuras e legendas

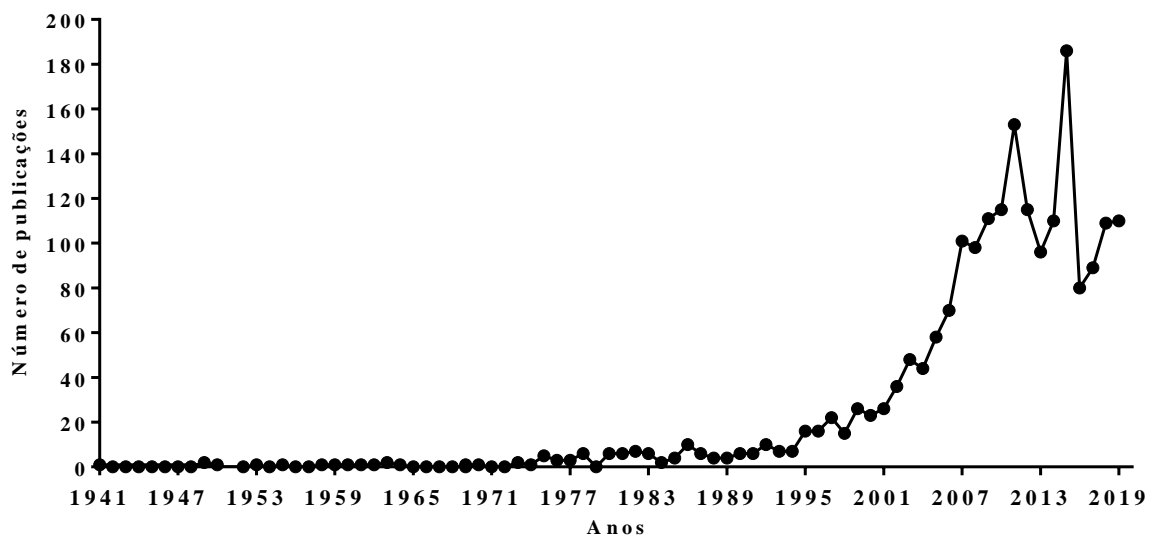


Figura 1: Quantidade de trabalhos publicados ao longo de 78 anos (1941 a 2020)

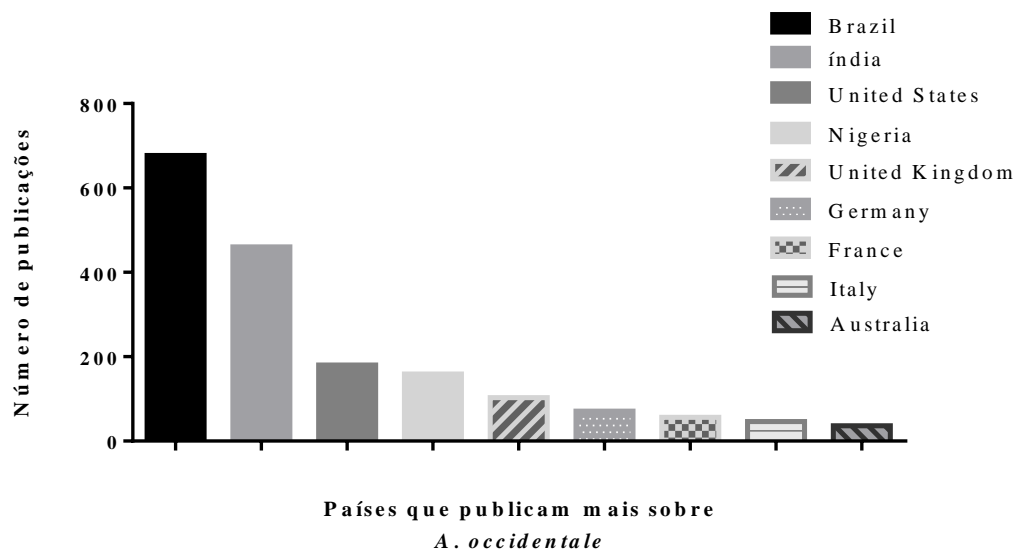


Figura 2. Países de maior destaque no ranking de publicações

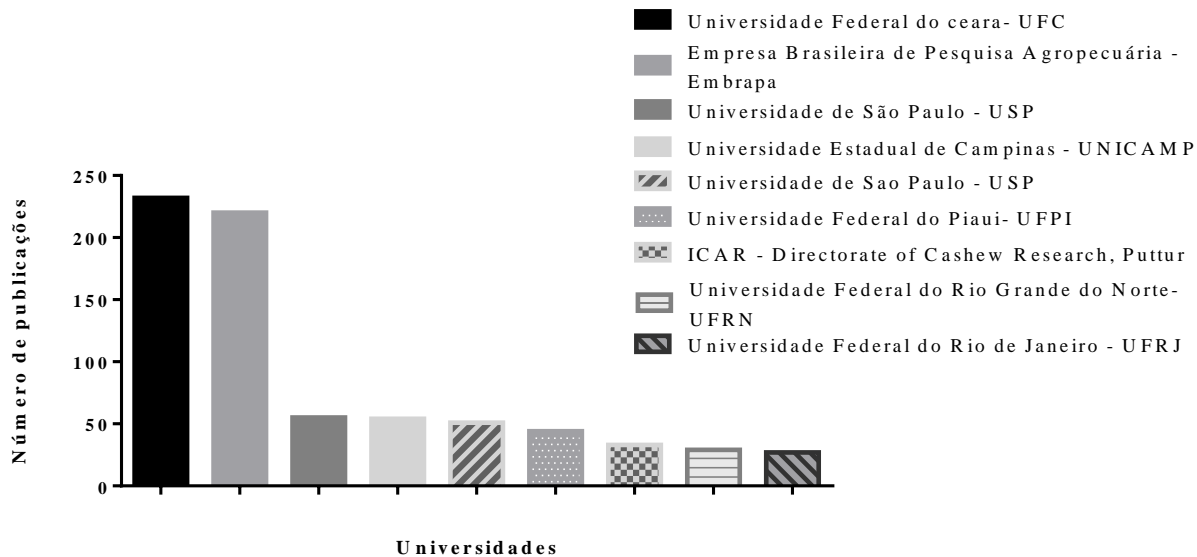
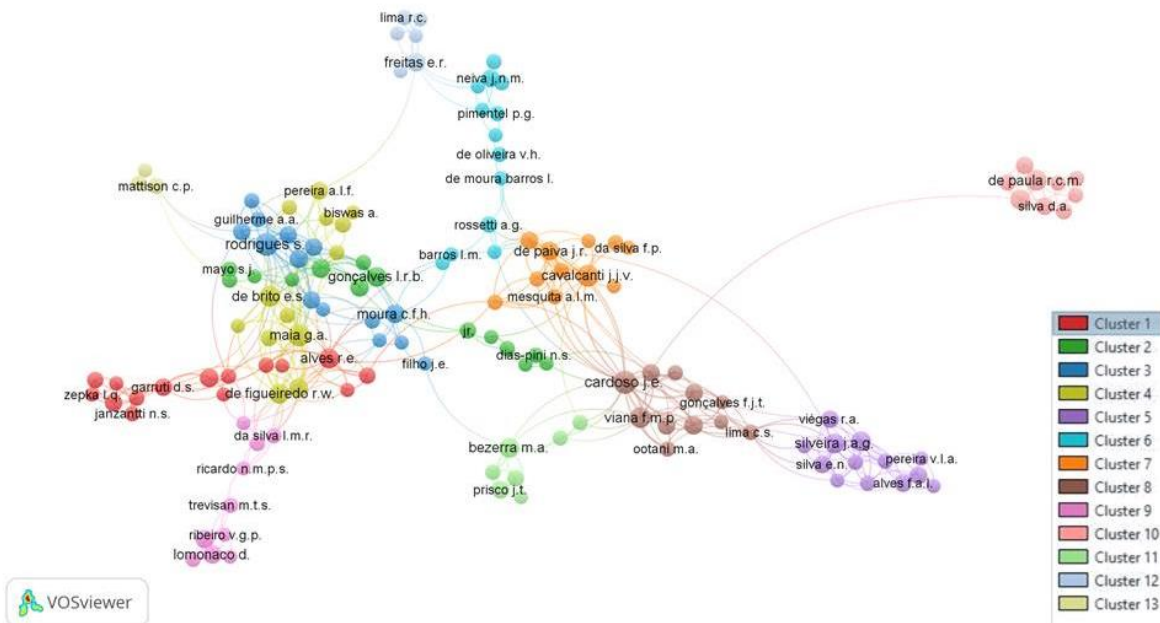


Figura 3: Principais Universidades que publicaram trabalhos com *A. occidentale*



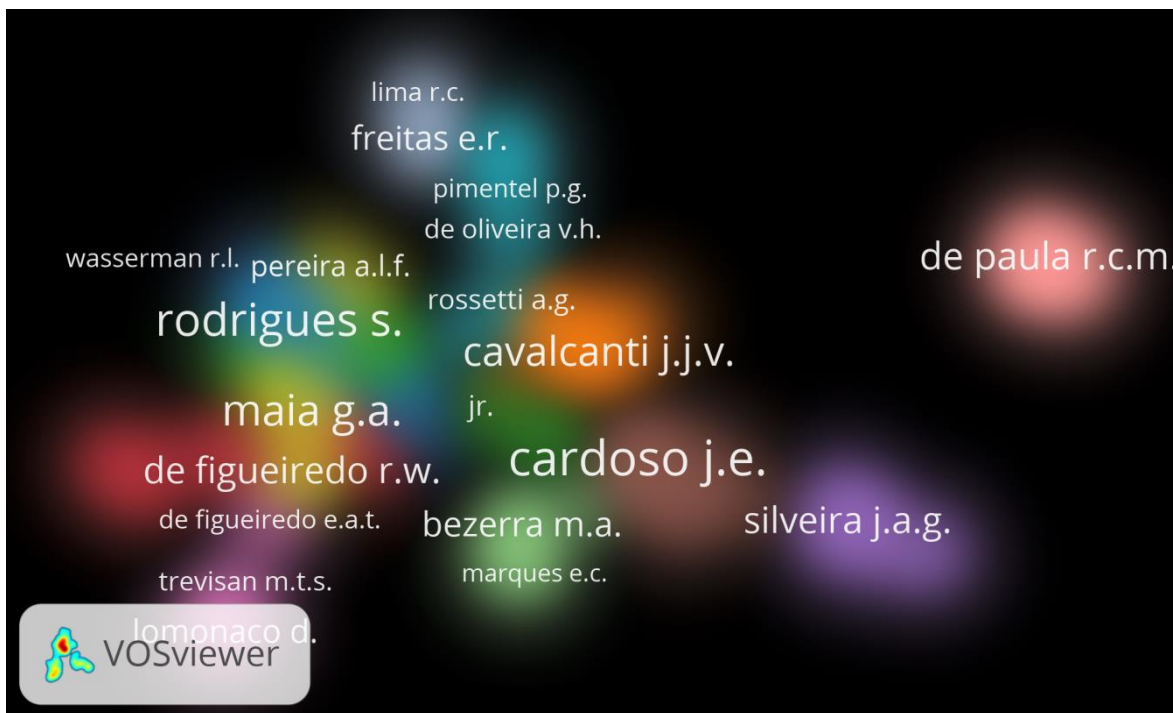


Figura 4. Rede de autorias que publicaram durante 1941–2020 (A) e densidade (B). As cores dos autores da rede indicam agrupamentos ou colaboração identificados pelo VOSviewer.

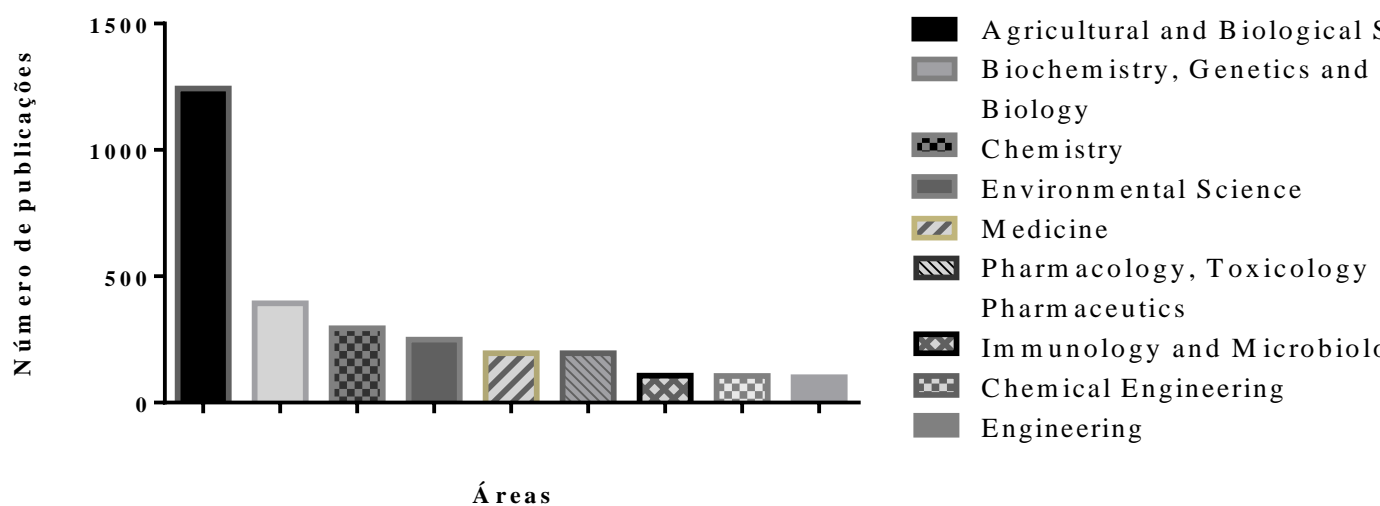


Figura 5: Distribuição de áreas com maiores publicações envolvendo *Anacardium occidentale*

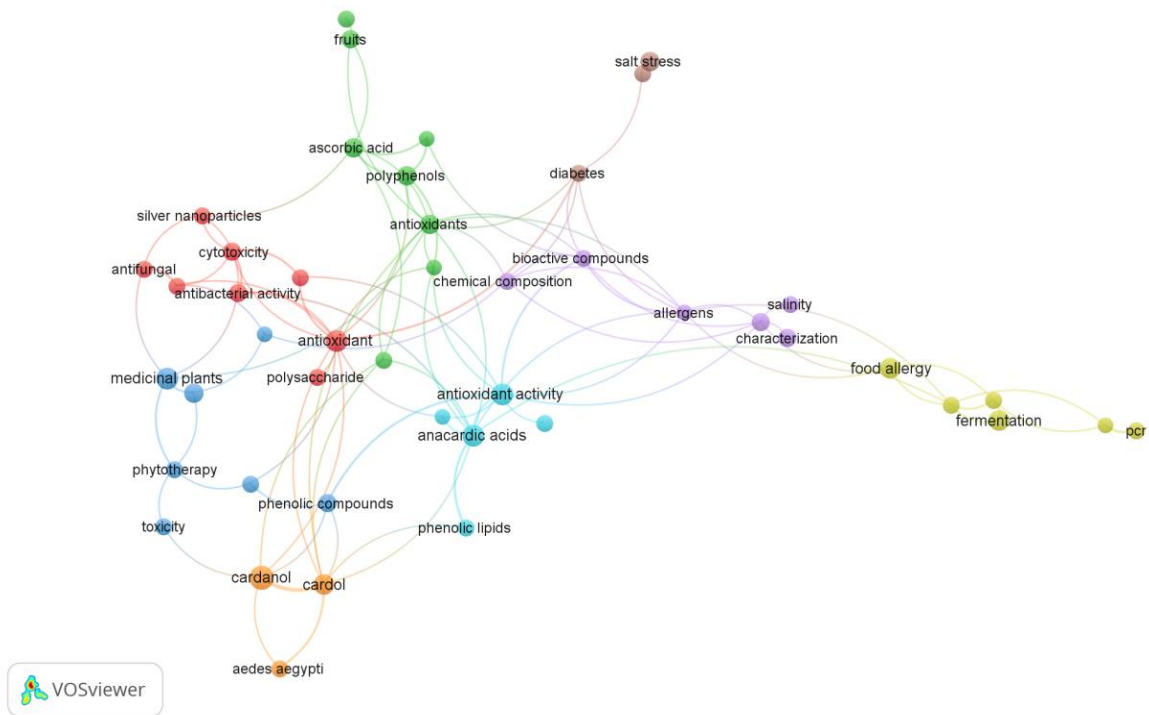


Figura 6. Rede de ocorrência de citações extraídas do campo de títulos dos trabalhos publicados de 1941 a 2020. Cada círculo no mapa representa um termo que ocorreu pelo menos 20 vezes e o tamanho do círculo ou nó de um termo é proporcional ao número de ocorrência desse termo, identificados pelo VOSviewer.

REFERÊNCIAS

- ADEDARA, I. A., ROSEMBERG, D. B., SOUZA, D. O., KAMDEM, J. P., FAROMBI, E. O., ASCHNER, M.; ROCHA, J. B. T. Biochemical and behavioral deficits in the lobster cockroach *Nauphoeta cinerea* model of methylmercury exposure. **Toxicology Research**, 4(2), 442–451, 2015.
- ANANTHA, N. D. Approaches to pre-formulation R and D for phytopharmaceuticals emanating from herb based traditional Ayurvedic processes. **Journal Ayurveda and Integrative Medicine**. v. 4, p. 4–8, 2013.
- ANDRADE, T. DE J. A. DOS S., ARAÚJO, B. Q., CITÓ, A. M. DAS G. L., DA SILVA, J., SAFFI, J., RICHTER, M. F., & FERRAZ, A. DE B. F. Antioxidant properties and chemical composition of technical Cashew Nut Shell Liquid (tCNSL). **Food Chemistry**, v. 126, p. 1044-1048, 2011.
- AULUCK, P. K.; CHAN, H. Y. E.; TROJANOWSKI, J. Q.; LEE, V. M. Y.; BONINI, N. M. Chaperone suppression of alpha-synuclein toxicity in a *Drosophila* model for Parkinson's disease. **Science**, v. 295, p. 865–868, 2002.
- Baladi, Z. H.; Umedani, L. V. Pakistan Journal of Medical Sciences: a bibliometric assessment 2001–2010. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v.33, p. 714–719, 2017.
- BARBOSA, K.B.M.; COSTA, M.N.B.; ALFENAS, R.C.G.; PAULA, S.O.; MINIM, V.P.R.; BRESSAN, J. Oxidative stress: concept, implications and modulating factors. **Revista Nutrição**. v.23, n.4, 2010.
- BARBOSA, P., MEDEIROS, R.S., SAMPAIO, P.T.B., VIEIRA, G., WIEDEMANN, L.S.M., VEIGA-JUNIOR, V.F. Influence of abiotic factors on the chemical composition of copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne): soil composition, seasonality and diameter at breast height. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 23, p.1823–1833, 2012
- BARBOSA-FILHO, V. M.; WACZUK, E. P.; KAMDEM, J. P.; ABOLAJI, A. O.; LACERDA, S. R.; DA COSTA J. G. M. Phytochemical constituents, antioxidant activity, cytotoxicity and osmotic fragility effects of Caju (*Anacardium microcarpum*). **Industrial Crops and Products**. v.55, p.280-288, 2014.
- BARBOSA-FILHO, V. M.; WACZUK, E. P.; LEITE, N. F.; MENEZES, I. R.; DA COSTA, J. G.; LACERDA, S. R. Phytocompounds and modulatory effects of *Anacardium microcarpum* (caju) on antibiotic drugs used in clinical infections. **Drug Design, Development and Therapy**. v.9, p.5965-72, 2015.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BARROS, A. B., MOURA, A. F., SILVA, D. A., OLIVEIRA, T. M., BARRETO, F. S., RIBEIRO, W. L. C., MARINHO-FILHO, J. D. B. Evaluation of antitumor potential of

cashew gum extracted from *Anacardium occidentale* Linn. **International Journal of Biological Macromolecules**. v. 20, p. 293-296, 2020.

BARROS, L., DUEÑAS, M., DIAS, M. I., SOUSA, M. J., SANTO-BUELGA, C., FERREIRA, I. C. F. R. Phenolic profiles of cultivated, *in vitro* cultured and commercial samples of *Melissa officinalis* L. infusions. **Food Chemistry**. v.136, n.1, p. 1-8, 2013.

BASARAN, A. A.; YU, T. W.; PLEWA, M. J.; ANDERSON, D. An investigation of some Turkish herbal medicines in *Salmonella typhimurium* and the Comet assay in human lymphocytes. **Teratogen Carcinog Mutagen**. v.16, p.125–138, 1996.

BEDNARCZUK, V. O.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Testes *in vitro* e *in vivo* utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**. v.11, n. 2, p. 36-42, 2010.

BONILLA, C., MERIGÓ, J. M.; TORRES-ABAD, C. Economics in Latin America: a bibliometric analysis. **Scientometrics**, v. 105, 1239–1252. 2015.

BRAY, F., FERLAY, J., SOERJOMATARAM, I., SIEGEL, R. L., TORRE, L. A., JEMAL, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians, Hoboken**, v. 68, n. 6, p. 394-424, Nov. 2018.

BRAY, F. SOERJOMATARAM, I., SIEGEL, R. L. **Planning and developing populations-based cancer registration in low-and middle-income settings**. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2014. (IARC technical publication, n. 43). Available at: http://www.rho.org/files/IARC_Planning_developing_cancer_registries_2014.pdf. Access in: 20 Sep. 2019

BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W., JONES, R.L. **Biochemistry and molecular biology of plants**. John Wiley & Sons. 2015

CAMPOS, L.A.; SANTOS, S.A.; FRANCO, F.H., et al Influence of the hydroxypropyl acrylate and hydroxypropyl methacrylate monomer concentration on the emulsion copolymerization of styrene with n-butyl acrylate and acrylonitrile to produce adhesives. **revista Matéria**, v.24, n.3, 2019.

CARRAZONI, T. M.; DE AVILA H. A. P.; PERIN, P. V.; RODRIGUES, F. D.; DOS SANTOS, C. G.; DE ALMEIDA, R.; VAZ BRENDA, D. S.; DOS SANTOS, P. M.; PINTO, J. C.; DA COSTA, C. R.; CARLINI, C. A. Central and peripheral neurotoxicity induced by the Jack Bean 412 Urease (JBU) in *Nauphoeta cinerea* cockroaches. **Toxicology**. v.413, p. 162-171, 2016.

CHOI, J. H.; ROH, K.H.; OH, H.; PARK, S.J.; HA, S.M.; KANG, M.S.; LEE, J.H.; JUNG, S.Y.; H SONG, H.; YANG, J.W.; PARK, S.G. Caffeic acid phenethyl ester lessens disease symptoms in an experimental autoimmune uveoretinitis mouse model. **Research**, v.134, p. 53–62, 2015.

CHOODHARY, N.; SEKHON, B. S. An overview of advances in the standardization of herbal drugs. **Journal of Pharmaceutical Education and Research**. v.2, p. 55–70, 2011.

CORREIA; S. J.; JUCENI P. D.; JORGE M.D. Secondary metabolites from species of Anacardiaceae. **Química Nova**. v. 29, n. 6, 2006.

COSTA , A. R.; SILVA , J. L.; LIMA , K. R. R.; ROCHA, M. I.; BARROS, L. M.; COSTA, J. G. M.; BOLIGON , A. A; KAMDEM, J. P.; CARNEIRO, J. N. P.; LEITE, N. F.; MENEZES, I. R. A.; DUARTE, A. E.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; COUTINHO, H. D. M. *Rhaphiodon echinus* (Nees & Mart.) Schauer: Chemical, toxicological activity and increased antibiotic activity of antifungal drug activity and antibacterial. **Microbial Pathogenesis**. v.107, p.280-286, 2017.

CUNHA, F. A. B.; WALLAU, G. L.; PINHO, A. I.; NUNES, M. E. M.; LEITE, N. F.; TINTINO, S. R.; PEREIRA, A. B. *Eugenia uniflora* leaves essential oil induces toxicity in *Drosophila melanogaster*: involvement of oxidative stress mechanisms. **Toxicology Research**. v. 4, p.634–644, 2015.

DE SÁ, F. I. C. F.; VARGAS, V. M. Mutagenicity of medicinal plant extracts in *Salmonella* microsome assay. **Phytother Res**. v.13, p.397–400, 1999.

DIXON S. J.; STOCKWELL, B.R. The role of iron and reactive oxygen species in cell death. **Nature Chemical Biology**. v.10, p.9-17, 2014.

DUARTE, A. E.; WACZUK, E. P.; ROVERSI, K.; DA SILVA, M. A.; BARROS, L. M.; DA CUNHA, F. A.; DE MENEZES, I. R.; DA COSTA, J. G.; BOLIGON, A. A; ADEMILUYI, A. O.; KAMDEM, J. P.; ROCHA, J. B.; BURGER, M. E. Polyphenolic composition and evaluation of antioxidant activity, osmotic fragility and cytotoxic effects of *Rhaphiodon echinus*. **Molecules**. v. 21, p. 2-15, 2016.

DUARTE, A. R.; SANTOS, S. C.; SERAPHIN, J. C.; FERRI, P. H. Environmental influence on phenols and essential oils of *Myrciaria cauliflora* leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.21, p.1672–1680, 2010.

Elkins, M. R.; Maher, C. G.; Herbert, R. D.; Moseley, A. M.; Sherrington, C. Correlation between the journal impact factor and three other journal citation indices. **Scientometrics**, v. 85, n. 1, p. 81-93, 2010.

FARIAS, D. C. O; IMADA, L. F.Y; KATAYAMA, L. Análise do efeito de toxicidade do chorume utilizando *Artemia salina*. **Revista Ciências do ambiente Online**, v. 6, n. 1, p. 83-85, 2010.

Galvão, A.W.R., Braz, F.R., Canuto, K.M., Ribeiro, P.R.V., Campos, A.R., Moreira, A.C.O.M., Silva, S.O., Mesquita, F.F.A., Melo, J.J.M.A., Gonçalves, N.G.G., Fonseca, S.G.C., Bandeira, M.A.M. Gastroprotective and anti-inflammatory activities integrated to chemical composition of *Myracrodruon urundeuva* Allemão - A conservationist proposal for the species. **Journal Ethnopharmacology**, v.10, p. 177-189, 2018.

GAZNI, A.; DIDEGAH, F. Investigating different types of research collaboration and citation impact: a case study of Harvard University's publications. **Scientometrics**, v. 87, n. 2, p. 251- 265, 2011.

GROTTO, H.Z.W. Iron physiology and metabolism. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. v. 32, p. 8-17, 2010.

HEINISCH, S.; ROCCA, J.L. Sense and Nonsense of High-Temperature Liquid Chromatography. **Journal Chromatography A**, v. 1216, p. 642–658, 2009.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Câncer**. Rio de Janeiro, 2013.
Disponível em: <<<https://www.inca.gov.br/o-que-e-cancer>>. Acesso em: 23 Mar 2019.

ISLAMI, F., GODING SAUER, A., MILLER, K. D., SIEGEL, R. L., FEDEWA, S. A., JACOBS, E. J., JEMAL, A. Proportion and number of cancer cases and deaths attributable to potentially modifiable risk factors in the United States. **CA: a cancer journal for clinicians, Hoboken**, v. 68, n. 1, p. 31-54, Jan. 2018.

JASTREBOVA, J., STRANDLER, H. S., PATRING, J., WIKLUND, T. Comparison of UPLC and HPLC for Analysis of Dietary Folates. **Chromatographia**, v. 73, n.3-4, p. 219–225, 2011.

KAMDEM, J.P.; AMOS O. A.; ROOS, D.H.; CALABRÓ, L.; BARBOSA, N. V.; SOUZA, D.O.; ROCHA, J .B. T. Scientific Performance of Brazilian Researchers in Pharmacology with grants from CNPq: A comparative study within the Brazilian categories. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88 n. 3, p.1735-1742, 2016.

KANG, H. M.; SALTVEIT, M. E. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. **Physiologia Plantarum**, v. 115, p. 571-576, 2002.

KAZANTSEV, A.; WALKER, H. A.; SLEPKO, N.; BEAR, J. E.; PREISINGER, E.; STEFFAN, J. S.; ZHU, Y. Z.; GERTLER, F. B.; HOUSMAN, D. E.; MARSH, J. L.; THOMPSON, L. M. A bivalent Huntingtin binding peptide suppresses polyglutamine aggregation and pathogenesis in *Drosophila*. **Nature Genetics**. v. 30, p. 367–376, 2002.

KENNY, P. A.; LEE, G. Y.; BISSELL, M. J. Targeting the tumor microenvironment. **Frontiers in bioscience**. v.12, p. 3468–3474, 2007.

KRAUSKOPF, E. A bibliometric analysis of the Journal of Infection and Public Health: 2008–2016. **Journal of Infection and Public Health**, v. 11, n. 2, p.224–229, 2018.

LIU, T.; LIU, W.; ZHANG, M.; YU, W.; GAO F.; LI, C. Ferrous-Supply-Regeneration Nanoengineering for Cancer-Cell-Specific Ferroptosis in Combination with Imaging-Guided Photodynamic Therapy. **ACS Nano**. v. 12, n. 121, p. 81-92, 2018.

LOPES, A.S.; COX, F.R. A survey of the fertility status of surface soils under “Cerrado” vegetation in Brazil. **Soil Science Society of America Journal**, v.41(4), p. 742-747, 1977.

LÓPEZ, C. A. A., LIMA, K. R. S., MANNO, M. C., TAVARES, F. B., FERNANDES NETO, D. L., JESUS, M. L. C., FONSECA, L. A. B. Effects of cashew nut shell liquid (CNSL) on the performance of broiler chickens. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 4, p. 1027-1035, 2012.

LOZANO, G. A.; LARIVIÈRE, V.; GINGRAS, Y. The weakening relationship between the impact factor and papers' citations in the digital age. **Journal of the Association for Information Science and Technology**, v. 63, n. 11, p. 2140-2145, 2012.

LUZ, C.L.S., 2017. Anacardiaceae in **Flora do Brasil 2020** em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB77852>>. Acesso em: 28 jun. 2019.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA J. R.; GRYNBERG, N. F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**. v. 25, p.429–438, 2002.

MONGEON, P.; PAUL-HUS, A. The journal coverage of Web of Science and Scopus: a comparative analysis. **Scientometrics**, v. 106, n. 1, p. 213-228, 2016.

MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**. 16;65(1-2):55-63, 1983.

MUBASHAR SABIR, S. Y. E. D.; KHAN, M. F.; ROCHA, J. B. T.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L. Phenolic Profile, Antioxidant Activities and Genotoxic Evaluations of *Calendula officinalis*. **Journal of Food Biochemistry**. v.39, p.316-324, 2015.

MUBOFU, E.B.; MGAYA, J.E. Chemical valorization of cashew nut shell waste. **Topics in Currnt Chemistry**. v. 376, n. 8, 2018.

NARAYANAN, A.S.; ROTHENFLUH, A. Believe I can fly! Use of *Drosophila* as a model organism in neuropsychopharmacology research. **Neuropsychopharmacology**. v. 41(14), p. 39-46, 2016.

NING, Z., ZHAI, L., HUANG, T., PENG, J., HU, D., XIAO, H., BIAN, Z. Identification of α -glucosidase inhibitors from cyclocarya paliurus tea leaves using UF-UPLC-Q/TOF-MS/MS and molecular docking. **Food and Function**. 10. 1893, 2019.

NUNES, S.; PEREIRA, R. G.; ELEKOFEHINTI, P. S.; FIDELIS, O. O.; DA SILVA, K. R.; IBRAHIM, C. S.; TSOPMO, A. Possible involvement of transcriptional activation of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) in the protective effect of caffeic acid on paraquat-induced oxidative damage in *Drosophila melanogaster*. **Pesticide biochemistry and physiology**. v.157, p.161-168, 2019.

OSMARI, M.P., DE MATOS, L.F., SALAB, B.L., DIAZ, T.G., GIOTTO, F.M. Líquido da casca da castanha de caju: características e aplicabilidades na produção animal. **Pubvet**, v. 9, 143-149, 2015.

PANCHAL, K.; TIWARI, A. K. *Drosophila melanogaster* “a potential model organism” for identification of pharmacological properties of plants/plant-derived components. **Biomed Pharma**. v.89, p.1331–1345, 2017.

PANDEY, U. B.; NICHOLS, C. D. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. **Pharmacological Reviews**. v.63, p. 411–436, 2011.

PAPATRIANTAFYLLOU, M. Cell death: Programmed necrosis: putting the pieces together. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**. v. 13, p. 135-142, 2012.

PARAMSHIVAPPA, R.; KUMAR, P. P.; VITHAYATHIL, P. J.; RAO, A. S.; Novel Method for Isolation of Major Phenolic Constituents from Cashew (*Anacardium occidentale* L.) **Nut Shell Liquid**. v. 49, p. 25-48, 2001.

PEREIRA, R.J., CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes Vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v. 3, n. 4, p.146-152, 2012.

POMPA, P. P., VECCHIO, G., GALEONE, A., BRUNETTI, V., SABELLA, S., MAIORANO, G., CINGOLANI, R. *In Vivo* toxicity assessment of gold nanoparticles in *Drosophila melanogaster*. **Nano Research**, v. 4, n. 4, p. 405–413, 2011.

PRASAD, N. R. ; A. KARTHIKEYAN, S. KARTHIKEYAN, B.V. Reddy, Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibro sarcoma cell line, **Molecular and Cellular Biochemistry**. v.349, p. 11–19, 2011.

RAND, M. D. Drosophotoxicology: the growing potential for *Drosophila* in neurotoxicology. **Neurotoxicology Teratology**. v.32, p. 74–83, 2010.

RIBEIRO, D. A.; OLIVEIRA, L. G. S.; DE MACÊDO, D. G.; DE MENEZES, I. R. A.; DE COSTA, J. G. M.; DA SILVA, M. A. P.; DA LACERDA, S. R.; SOUZA, M. M. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado área of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. **Journal Ethnopharmacology**. v.155, p.1522–1533, 2014.

RIBEIRO, D.A., OLIVEIRA, L.G.S., DE MACÊDO, D.G., DE MENEZES, I.R.A., DE COSTA, J.G.M., DA SILVA, M.A.P., DA LACERDA, S.R., SOUZA, M.M., DE, A. Promising medicinal plants for bioprospection in a Cerrado área of Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 155, p. 1522–1533, 2014.

RICE, E. L. **Allelopathy**. Academic press. 2012

ROMERO-JIMENEZ, M.; CAMPOS-SANCHEZ, J.; ALLANA, M.; MUNOZ-SERRANO, A.; ALONSO MORAGA, A. Genotoxicity and antigenotoxicity of some traditional medicinal herbs. **Mutation Research**, v.585, p.147–155, 2005.

SALEH B., MINE G.Ö.; CELALE K.; BERAAT Ö.; MORAIS-BRAGA, M.F.B.; PEREIRA J.A.; CARNEIRO J.N.P.C.; BEZERRA, C.F.; SILVA. T.G.; COUTINHO, H.D.M.; AMINA, B.; ARMSTRONG, L.; SELAMOGLU, Z.; SEVINDIK, M.; YOUSAF, Z.; SHARIFI-RAD, J.; MUDDATHIR, A.M.; DEVKOTA, H.P.; MARTORELL, M.; JUGRAN, A.K.; MARTINS, N.; CHO, W.C. Anacardium Plants: Chemical, Nutritional Composition and Biotechnological Applications. **Biomolecules**, v. 9, n.465; p. 2-14, 2019.

SANG, M., LUO, R., BAI, Y., DOU, J., ZHANG, Z., LIU, F., LIU, W. Mitochondrial membrane anchored photosensitive nano-device for lipid hydroperoxides burst and inducing ferroptosis to surmount therapy-resistant cancer. **Theranostics**, v. 9(21), p. 6209–6223, 2019.

SANTOS, A., *ET AL.* Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf em função de sazonalidade e consorciamento. **Revista Brasileira de Farmácia**. v.19, p. 436–441, 2009.

SATO, Y.; ITAGAKI, S.; KUROKAWA, T.; OGURA, J.; I KOBAYASHI, M.; HIRANO, T.; SUGAWARA, M.; ISEKI, K.; *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. **International Journal of Pharmaceutics**, v.403, p.136–138, 2011.

SCHMEISER, H. H.; STIBOROVA, M.; ARLT, V. M. Chemical and molecular basis of the carcinogenicity of Aristolochia plants. **Current Opinion in Drug Discovery & Development**. v.12, p.141–148, 2009.

SILVA, J. A.; BIANCHI, M. L. P. Cientometria: a métrica da ciência. **Paidéia** (Ribeirão Preto). v.11, n. 21, p. 5-10, 2011.

SILVA, R. M.; HAYASHI, C. R. M.; HAYASHI, M. C. P. I. Bibliometric and scientometric analyses: challenges for specialists working in the field. *In* **CID: R. Ci. Inf. e Doc.** Ribeirão Preto. v. 2, n. 1, p. 110-129, 2011.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed Editora. 2016.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; DE MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. **Artmed Editora**. 2016.

SODAEIZADEH, H.; *et al.* Herbicidal activity of a medicinal plant, *Peganum harmala* L., and decomposition dynamics of its phytotoxins in the soil. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 2, p. 385-394, 2010.

SOUZA, N. C.; OLIVEIRA, J.M.; MORRONE, M.S.; ALBANUS, R.D.; AMARANTE, M.S.M.; CAMILLO, C.S.; LANGASSNER, S.M.Z.; GELAIN, D.P.; MOREIRA, J.C.F.; DALMOLIN, R.J.S.; PASQUALI, M.A.B. Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Anacardium occidentale* Leaf Extract. **Research Article**. v. 8, p. 278-308, 2017.

SUZIMONE DE J. CORREIA; JUCENI P. DAVID JORGE M. DAVID. Metabólitos secundários de espécies de Anacardiaceae. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1287-1300, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 5 ed., 2017. 820 p.

TAN, Y. P., & CHAN, E. W. C. Antioxidant, antityrosinase and antibacterial properties of fresh and processed leaves of *Anacardium occidentale* and Piper betle. **Food Bioscience**, v. 6, p. 17–23, 2014.

TEDONG, L. ; MADIRAJU, P. ; MARTINEAU, L. C.; VALLERAND, D.; ARNASON, J. T.; DESIRE, D. D.; LAVOIE, L.; KAMTCHOUING, P.; HADDAD,P.S. Hydro-ethanolic extract of cashew tree (*Anacardium occidentale*) nutandit sprincipal compound, anacardic acid, stimulate glucose uptake in c2c12 muscle cells. **Molecular Nutrition and Food Research**. v. 54, p. 1753–1762, 2010.

VIEIRA, V.; MAYO, S. J.; ANDRADE, I. M. Geometric morphometrics of leaves of *Anacardium microcarpum* Ducke and *A. occidentale* L. (Anacardiaceae) from the coastal region of Piauí, Brazil. **Brazilian Journal of Botany**. v.37, n. 3, p. 315–327, 2014.

VOGL, O.; MITCHELL, J. D. Pure Appl. **Chemical**. v. 33, p. 158-162, 1996.

VOGL, O.; QIN, M.; MITCHELL, J. D. Cellul. Chem. Technol. v.29, p. 273, 1995.

WACZUK, E. P.; KAMDEM, J. P.; ABOLAJI, A. O.; MEINERZ, D. F.; CAERAN, B.O. D.; DO NASCIMENTO, G.; THALLITA, K. S.; DO CANTO, D., T. S.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; DA ROCHA, J. B. T.; ÁVILA, D. S. *Euphorbia tirucalli* aqueous extract induces cytotoxicity, genotoxicity and changes in antioxidant gene expression in human leukocytes. **Toxicology Research**, v. 4, p. 739-748, 2015.


WALTMAN, L. A review of the literature on citation impact indicators. **Journal of Informetrics**, v. 10, n. 2, p. 365-391, 2016.

WORLD HEATH ORGANIZATION (WHO). World health statistics 2010. Disponível em: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en>. Acesso em: 27 junho de 2019


ZOUARI, N. Essential oils chemotypes: a less known side. **Medicinal Aromatic Plants**. v.2, p.145–154, 2013.

ANEXOS

Manuscript 1

JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY B  Luiz Marivando Barros | My Journals | Log Out | Help **EVISE**

[Home](#) [Reports](#)

 The cross-check reports are currently unavailable, we are working to restore service as soon as possible. The COVID-19 pandemic impacts us all, and we are offering all possible support to our customers and employees. While at present there has been no major impact to our business or services, we ask for your understanding that this unprecedented situation might lead to some delays in the peer review process. For further support, please visit our Covid-19 community resilience resources center: www.elsevier.com/community-resilience-resources.


My Author Tasks


[Start New Submission](#) [Click here to view your submissions with a final decision](#)

My Submissions with Journal (1)

INFLUENCE OF ABIOTIC FACTORS ON PHYTOCHEMICAL DIVERSITY OF <i>Anacardium occidentale</i> L. Current status: With Editor (25/May/2020)	CHROMB_2020_684 Editor: Govert Somsen Article Type: Full Length Article Initial submission : 19/May/2020
---	---

Manuscript 2- Publicado

 [Download PDF](#) [Share](#) [Export](#) [Advanced](#)

 **South African Journal of Botany**
Volume 135, December 2020, Pages 355-364

Phytochemical profile of *Anacardium occidentale* L. (cashew tree) and the cytotoxic and toxicological evaluation of its bark and leaf extracts

Adrielle Rodrigues Costa ^{a, b, c}, Jailson Renato de Lima Silva ^b, Thalyta Jullyanne Silva de Oliveira ^d, Teresinha Gonçalves de Silva ^e, Pedro Silvino Pereira ^f, Elizabeth Fernanda de Oliveira Borba ^g, Edy Sousa de Brito ^h, Paulo Ricelli Vasconcelos Ribeiro ⁱ, José Waverston Almeida-Bezerra ^j, João Tavares Calisto Júnior ^k, Irwin Rose Alencar de Menezes ^l, Jean Paul Kamdem ^m, Antonia Eliene Duarte ^{n, o}, Luiz Marivando Barros ^{a, h, o}

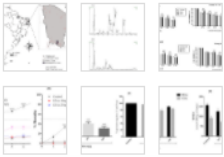
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.09.017> [Get rights and content](#)

Outline

- Highlights
- Abstract
- Keywords
- 1. Introduction
- 2. Materials and methods
- 3. Results and discussion
- 4. Conclusion
- Declaration of Competing Interest
- Acknowledgments
- Research Data
- References

[Show full outline](#)

Figures (7)



[Show all figures](#)

Tables (4)

- Table 1
- Table 2
- Table 3

Recommended articles

- Liposomal nanodelivery systems generated fro...
Heliyon, Volume 6, Issue 9, 2020, Article e05030
[Download PDF](#) [View details](#)
- Determination of *C. botulinum* presence in polle...
LWT, Volume 134, 2020, Article 110172
[Download PDF](#) [View details](#)
- Potential of antibiotic activity by chalcone (E)...
Microbial Pathogenesis, Volume 148, 2020, Article 104...
[Download PDF](#) [View details](#)


[1 2 Next](#)


Citing articles (0)

Highlights



- The leaves and barks of *A. occidentale* have phenolic acids, flavonoids and tannins.
- The bark extract presented a greater cytotoxic activity over tumor cells.
- Both extracts presented a low cytotoxicity over ordinary cells.
- No changes in the level of protein and non-protein thiols were observed in the *D. melanogaster* assays.

Manuscrito 3

Journal of INFORMETRICS 

Luiz Marivando Barros | My Journals | Log Out | Help 


[Home](#) [Reports](#)

 The COVID-19 pandemic impacts us all, and we are offering all possible support to our customers and employees. While at present there has been no major impact to our business or services, we ask for your understanding that this unprecedented situation might lead to some delays in the peer review process. For further support, please visit our Covid-19 community resilience resources center: www.elsevier.com/community-resilience-resources. 

My Author Tasks

[Start New Submission](#) [Click here](#) to view your submissions with a final decision

My Submissions with Journal (1)

<p>Scientometric perspectives and visualization analyzes of Anacardium occidentale L. based on the Scopus database</p> <p>Current status: With Editor  (24/Aug/2020)</p>	<p>JOI_2020_501</p> <p>Editor-in-Chief: Mu-hsuan Huang</p> <p>Article Type: Review Article</p> <p>Initial submission : 24/Aug/2020</p>
---	--