



## Avaliação do potencial antimicrobiano e antiofídico de *Casearia javitensis* (Salicaceae)

Maria Carolina Scheffer de Souza<sup>1</sup>, Valéria Mourão de Moura<sup>2</sup>, Ilia Gilmará Carvalho dos Santos<sup>3</sup>, Cecília Verônica Nunez<sup>4</sup>, Maria Cristina dos Santos<sup>5</sup>

### Resumo

Dentro do gênero *Casearia* existem várias espécies com atividades biológicas relevantes, utilizadas na forma de preparados diversos de acordo com o conhecimento tradicional e investigadas em vários estudos. Destas atividades, se destacam a antimicrobiana e antiofídica, esta última em especial contra o veneno de serpentes do gênero *Bothrops*, frequentes causadoras de acidentes no norte do Brasil. O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial antibacteriano e antiofídico da espécie *C. javitensis* coletada em Manaus – AM. Extratos preparados com hexano, metanol e água foram submetidos aos ensaios *in vitro* de inibição das atividades coagulante e de fosfolipase A<sub>2</sub> do veneno de *B. atrox*, de toxicidade sobre *Artemia salina* e antimicrobianos. Foi observado que os protocolos de ensaios antiofídicos que utilizam a pré-incubação do veneno com os extratos não são eficientes. Em vista disso, os ensaios subsequentes foram efetuados sem pré-incubação. Os extratos de *C. javitensis* não foram considerados tóxicos sobre larvas de *A. salina*, mas demonstraram atividade antimicrobiana sobre microrganismos presentes em infecções secundárias consequentes de acidentes ofídicos.

**Palavras-Chave:** *Casearia javitensis*, atividade antiofídica, atividade antimicrobiana, conhecimento tradicional.

**Evaluation of antimicrobial and antiophidic potential of *Casearia javitensis* (Salicaceae).** In the *Casearia* genus there are several species with relevant biological activities, used in the form of diverse preparations according to the traditional knowledge and investigated in several studies. Of these activities, antimicrobial and antiophidic stand out, the last one especially against the venom of serpents of the genus *Bothrops*, frequent cause of accidents in the north of Brazil. The objective of this work was to evaluate the antibacterial and antiophidic potential of *C. javitensis* collected in Manaus - AM. Extracts prepared with hexane, methanol and water were subjected to the *in vitro* inhibition of coagulant and phospholipase A<sub>2</sub> activities of *B. atrox* venom, toxicity on *Artemia salina* and antimicrobials. It has been observed that the protocols of antiophidic tests that use the pre-incubation of the venom with the extracts are not efficient. In view of this, subsequent assays were performed without preincubation. Extracts of *C. javitensis* were not considered toxic to larvae of *A. salina* but demonstrated antimicrobial activity on microorganisms present in secondary infections resulting from ophidian accidents.

**Key-words:** *Casearia javitensis*, antiophidic activity, antimicrobial activity, traditional knowledge.

<sup>1</sup> Doutoranda do PPGBiotec, UFAM, [mcarol.biotec@gmail.com](mailto:mcarol.biotec@gmail.com)

<sup>2</sup> Pós-doutoranda, PPGRNA, Departamento de Recursos Naturais da Amazônia, UFOPA, [mouraovm@yahoo.com.br](mailto:mouraovm@yahoo.com.br)

<sup>3</sup> Professora, Laboratório de Imunoquímica, Departamento de Parasitologia, UFAM, [iliagilmara@hotmail.com](mailto:iliagilmara@hotmail.com)

<sup>4</sup> Tecnologista Sênior, Laboratório de Bioprospecção e Biotecnologia, Coordenação de Tecnologia e Inovação, INPA, [cvnunez@gmail.com](mailto:cvnunez@gmail.com)

<sup>5</sup> Professora Titular, Laboratório de Imunoquímica, Departamento de Parasitologia, UFAM, [mcsantos@ufam.edu.br](mailto:mcsantos@ufam.edu.br)



## 1. Introdução

As espécies do gênero *Casearia* tem sido utilizadas na medicina tradicional da América do Sul e da Ásia para tratar diversas enfermidades, tendo as atividades dos seus componentes avaliadas em vários estudos (XIA et al, 2014). Várias espécies do gênero são reportadas como portadoras de bioatividade, como *C. gossypiosperma*, que neutralizou o bloqueio neuromuscular induzido pelo veneno de *Bothrops jararacussu* (CAMARGO et al, 2010); *C. decandra* com propriedades contra fungos do apodrecimento da madeira (BENTO et al, 2013); *C. balansae* e *C. graveolens* com atividade de estimular o crescimento de células nervosas (XU et al, 2014; 2015); *C. grewiifolia* com citotoxicidade em células tumorais *in vitro* (DO et al, 2015; NUANYAI, 2017; NGUYEN, 2017); e *C. arborea* com atividade sobre *Leishmania infantum* e atividade imunomodulatória em macrófagos (SANTOS et al, 2017).

A espécie *C. sylvestris* aparece em maior número de estudos publicados. É utilizada popularmente contra várias enfermidades, na forma de chás, óleos, macerações, de uso tópico ou oral, tendo estas utilizações sido comprovadas cientificamente em diversos estudos (FERREIRA et al, 2011). Seus extratos, óleos, e substâncias isoladas são relatadas como tendo atividade contra *Leishmania donovani* e *Tripanossoma cruzi* (MESQUITA et al, 2005; BOU et al, 2014); no tratamento de neoplasia em animal doméstico (recuperação e cicatrização dos tecidos) (KULCHETSCKI et al, 2006); citotoxicidade em células tumorais (SILVA et al, 2009; BOU et al, 2013; FELIPE et al, 2014); quimiopreventivo, protetor contra diferentes tipos de danos no DNA (PRIETO et al, 2013); atividades anti-inflamatória e antioxidante (ALBANO et al, 2013); protetor cardiovascular (BRANT et al, 2014); atividade antifúngica contra agentes causadores do apodrecimento de madeira (BENTO et al, 2013); atividades antioxidante, antimicrobiana e hipolipidêmica (ESPINOSA et al, 2015); anti-inflamatório, bactericida e neutralizadora da paralisia neuromuscular causada pelo veneno de *B. jararacussu* (CAMPOS et al, 2015); atividade antibacteriana (CAVALHEIRO et al, 2016; LUIZ et al, 2017); e atividade antifúngica em *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida glabrata* e *C. krusei* (PEREIRA et al, 2017).

A capacidade de bloquear os efeitos da peçonha em acidentes botrópicos parece ser um grande potencial da espécie *C. sylvestris*. A espécie inibiu a atividade da PLA<sub>2</sub> dos venenos de *Bothrops pirajai*, *B. neuwiedi* e *B. jararacussu*, além de inibir as atividades miotóxica e coagulante e reduzir a formação de edema, prolongar o tempo de sobrevivência de camundongos injetados com doses letais de venenos ofídicos (BORGES, 2000). Bloqueou, ainda, a atividade hemorrágica causada pelos venenos de *B. asper*, *B. jararacussu*, *B. moojeni*, *B. neuwiedii* e *B. pirajai*, além de aumentar o tempo necessário para a coagulação do plasma causada pelos venenos de *B. jararacussu*, *B. moojeni* e *B. neuwiedii* (BORGES et al, 2001). Agiu sobre o dano muscular e bloqueio neuromuscular induzidos pelas fosfolipases A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) dos venenos de *Bothrops* sp. e *Crotalus* ssp. (CAVALCANTE et al, 2007); sobre efeitos miotóxicos e neurotóxicos da peçonha de *B. jararacussu* (CINTRA-FRANCISCHINELLI et al, 2008) e demonstrou atividade bloqueadora das ações da PLA<sub>2</sub>, anti edematogênica e antimiotóxica (SILVA et al, 2008).

A espécie *C. javitensis* é conhecida popularmente como caneleira ou mata-calado. É encontrada com grande frequência na região Amazônica, sendo também relatada sua ocorrência na floresta Atlântica, na restinga e no cerrado da região Nordeste (COSTA et al, 2004; CORRÊA, 2007). Ainda são encontrados poucos estudos a respeito desta espécie, porém, já foi relatado seu potencial antimicrobiano em ensaio de difusão em ágar, antioxidante e inseticida (BARBOSA, 2015; NUNEZ et al, 2016).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial da espécie *Casearia javitensis* quanto à sua atividade antimicrobiana em meio líquido, toxicidade frente à *Artemia salina* e potencial de bloquear os efeitos da peçonha de *Bothrops atrox* *in vitro* nos ensaios das atividades PLA<sub>2</sub> e anticoagulante.

## 2. Material e Método

**2.1 Material vegetal:** A espécie *Casearia javitensis* foi coletada no mês de junho de 2014 na Reserva Florestal Adolpho Ducke, localizada no km 26 da rodovia AM 010 em Manaus – AM, nas coordenadas S02° 55.978' W059° 58.644' e encontrava-se fértil. Foi depositada uma exsicata no Herbário do INPA sob o número 260179. As folhas foram separadas e secas em estufa de

ventilação forçada a 45°C por 3 dias e em seguida pulverizadas em moinho de facas. Os extratos brutos foram preparados adicionando solventes orgânicos e água às amostras pulverizadas, respeitando a ordem crescente de polaridade (1° hexano, 2° metanol e 3° água). Foram utilizados 264,15 g de pó das folhas e 5 L de hexano, 4 L de metanol e 1 L de água. Este material passou por banho de ultrassom durante 20 minutos, sendo coado em papel filtro e recebendo mais solvente, repetindo estas etapas até a exaustão, ou seja, quando visualmente não desprendia mais constituintes. Após extração, os extratos hexânico e metanólico foram concentrados em rota- evaporador e o aquoso foi liofilizado.



Figura 1 - *Casearia javitensis* (tronco, folhas e inflorescências)

**2.2 Peçonha de *B. atrox*:** pool de venenos extraídos de serpentes adultas provenientes da Floresta Nacional do Tapajós (FLONA), localizada no Km 83 da BR-163, Santarém-PA, Brasil. A coleta de serpentes e a extração da peçonha foram aprovadas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio, pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO - nº 14018). Os espécimes foram mantidos no biotério das Faculdades Integradas do Tapajós- FIT, Santarém-PA, sob a responsabilidade do MSc. Hipócrates de Menezes Chalkidis e com autorização do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA número 26/2013. As peçonhas foram coletadas *in natura*, liofilizadas como um *pool* e mantidas a -20 °C até o momento dos ensaios.

**2.3 Ensaio inibição da atividade da fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>):** A avaliação da atividade hemolítica indireta dos extratos de *Casearia javitensis* foi mensurada pela ação da enzima fosfolipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) em gel de agarose acrescido de gema de

ovo - como fonte de lecitina, eritrócitos, azida sódica 0,005% e cloreto de cálcio 0,01M. Essa mistura foi colocada em placas de Petri e depois de fria, foram feitos furos de 3 mm nos quais foram colocadas peçonha de *Bothrops atrox* e solução salina. As placas permaneceram em estufa a 37° C durante 24 horas. O potencial dos extratos em inibir a atividade fosfolipásica A<sub>2</sub> foi avaliado pelos protocolos de pré-incubação e também de incorporação dos extratos diretamente no gel (MOURA et al, 2014) de agarose (sem pré-incubação), nas proporções de 1:10 e 1:20 (peçonha:extratos). A atividade enzimática foi aferida medindo o tamanho dos halos com paquímetro e expressa como percentual de inibição, onde 100% de inibição correspondem à ausência do halo hemolítico. Cada ensaio foi realizado em quadruplicata e expresso como média ± desvio padrão da média. As médias foram comparadas por two-way ANOVA seguida do pós-teste de Tukey, usando  $p < 0,05$ . Gutiérrez e colaboradores (1988) definiram que a Dose Mínima Hemolítica indireta (DMHi) é a quantidade de peçonha capaz de clivar a lecitina e transformá-la em lisolecitina, a qual lisa as hemácias formando um halo hemolítico de 10 mm, e este método foi utilizado no presente trabalho com modificações. Portanto, consideramos como atividade antiPLA<sub>2</sub> o extrato capaz de inativar a PLA<sub>2</sub> e reduzir esse halo hemolítico.

**2.4 Ensaio de coagulação:** realizada de acordo com Moura et al (2017) extratos sem veneno, ausência de atividade. A atividade anticoagulante dos extratos de *Casearia javitensis* foi realizada de acordo com Moura et al, 2017. Para a determinação da dose mínima coagulante (DMC), definida como a concentração mínima de peçonha capaz de clivar o fibrinogênio e coagular 100 µL de plasma em 60 segundos, foram utilizadas diferentes concentrações de peçonha de *Bothrops atrox* obtidas por diluição seriada de 1000 até 15,6 µg/mL. O efeito bloqueador dos extratos da atividade coagulante de peçonha foi avaliado da seguinte forma: os extratos foram incubados previamente com a 2DMC da peçonha (4,5 µg) por 30 minutos a 37 °C nas proporções de 1:10 ou 1:20 (peçonha:extrato) e em seguida a mistura foi adicionada ao plasma humano. Os extratos (também nas proporções de 1:10 e 1:20) e a peçonha foram adicionados sem pré-incubação ao plasma. A formação da rede de fibrina na forma de



coágulo foi observada visualmente e o tempo necessário para ocorrer a coagulação foi aferido em segundos. Cada ensaio foi realizado em duplicata e expresso como média  $\pm$  desvio padrão da média. As médias foram comparadas por *two-way* ANOVA seguida do pós-teste de Tukey, usando  $p < 0,05$ .

**2.5 Ensaio antimicrobiano:** A atividade antimicrobiana de todos os extratos foi avaliada utilizando o ensaio de microdiluição em placas de 96 poços e a capacidade de inibição do crescimento microbiano foi determinada por leitura em espectrofotômetro, segundo metodologia adaptada de NCCLS, 2012. Os microrganismos utilizados foram cedidos pelo Laboratório de Microorganismos de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro - RJ. Os inóculos foram preparados com o auxílio de alça calibrada descartável, onde colônias de microrganismos provenientes de culturas puras de 24 horas foram inoculadas em caldo Müeller Hinton e homogeneizadas. A turbidez dos inóculos foi comparada e ajustada à turbidez do tubo 0,5 da escala de MacFarland, que corresponde a uma suspensão contendo aproximadamente  $1-2 \times 10^8$  unidades formadoras de colônias (UFC/mL). Em seguida, cada suspensão de cepa-teste foi diluída na proporção de 1:20, e 10  $\mu$ L de cada foi inoculado nas placas. Dos extratos brutos foram feitas diluições sucessivas (1000; 500; 250; 125; 62,25; 31;12 e 15,5  $\mu$ g/mL), e em seguida, 100  $\mu$ L de cada diluição foram adicionados em cada poço da placa. As leituras da absorbância foram feitas em espectrofotômetro Multiskan GO (Thermo Scientific) em comprimento de onda de 625 nm, que foram realizadas antes e após incubação das placas a 37 °C por 24 horas. O crescimento e a atividade inibitória foram avaliados pelas diferenças das densidades ópticas entre essas duas leituras. O controle positivo utilizado foi o antibiótico oxitetraciclina a 125  $\mu$ g/mL e como controle negativo, o próprio meio de cultura. Cada ensaio foi realizado em triplicata e expresso como média  $\pm$  desvio padrão da média. As médias foram comparadas por *two-way* ANOVA seguida do pós-teste de Tukey ou Dunnett, usando  $p < 0,05$ .

**2.6 Ensaio de toxicidade em *Artemia salina*:** Foi realizado segundo Meyer (1982), solubilizando os extratos de *casearia javitensis* em

dimetilssulfóxido (DMSO) ou água destilada. Os cistos de *A. salina* foram colocados para eclodir em solução salina sintética (38 g/L), sob iluminação artificial de lâmpada fluorescente e com estado de saturação de oxigênio conseguido com auxílio de uma bomba de ar conectada por 24 horas. Após este período, foram separadas as larvas dos cistos por possuírem fototropismo. O ensaio consistiu em adicionar 10 larvas em cada poço com capacidade de 3 mL acrescentando os extratos em concentrações de 1000 a 30  $\mu$ g/mL, em triplicata. Como controles, os solventes DMSO ou água. A contagem das larvas foi realizada após 24 horas para determinar a porcentagem de mortalidade.

### 3. Resultados e Discussão (Times New Roman 12)

#### 3.1 Ensaio Antiofídicos:

As fosfolipases A<sub>2</sub> são enzimas presentes na composição dos venenos, envolvidas nos efeitos locais responsáveis pelas manifestações clínicas como o bloqueio neuromuscular e o dano muscular agudo, são neuro e miotóxicas, hemolíticas, edematogênicas, pró-inflamatórias, hipotensivas, entre outros (GUTIÉRREZ; LOMONTE, 2012). No ensaio de pré-incubação, os extratos hexano, metanol e água demonstraram potencial para inibir a atividade da PLA<sub>2</sub> entre 20 e 54%. No entanto, quando os extratos foram incorporados ao gel e o veneno foi aplicado logo em seguida (ensaio sem pré-incubação), os extratos não foram capazes de inibir a enzima. (GRÁFICO 1).

Com relação à atividade coagulante (GRÁFICO 2) do veneno de *Bothrops atrox*, a dose mínima coagulante (DMC) do veneno foi de 2,25  $\mu$ g e, para os ensaios, foram utilizadas 2DMC. Os extratos de *C. javitensis* no ensaio de pré-incubação demonstraram pequena capacidade de inibir o veneno ao retardar em poucos segundos o tempo para coagulação do plasma. Já no ensaio sem pré-incubação, apenas a atividade do extrato aquoso se repetiu, apresentando diferença significativa e demonstrando novamente que os ensaios com pré-incubação não são ideais para determinação de atividades contra os venenos ofídicos. O extrato metanólico além de não inibir a atividade do veneno, foi capaz de acelerar o tempo de coagulação em 63%, ou seja, apresentou maior atividade coagulante que o veneno.

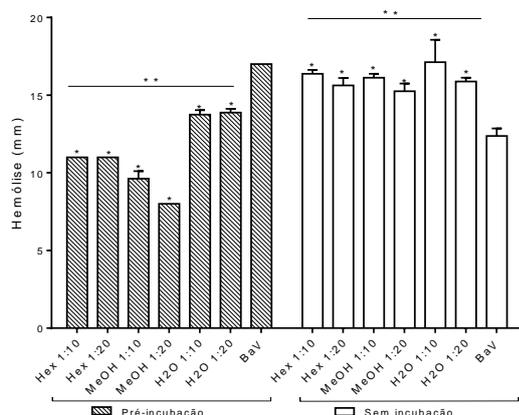


Gráfico 1 - Inibição da atividade PLA<sub>2</sub> do veneno de *Bothrops atrox* por extratos de *Casearia javitensis*  
 Nota: \*Diferença significativa entre os tratamentos (extratos) e o controle (BaV, apenas veneno). \*\* Diferença significativa entre os protocolos de ensaio (com e sem pré-incubação).  $p < 0,05$ . Teste de Tukey.

Moura e colaboradores (2014, 2016 e 2017) também observaram resultados semelhantes com as espécies *Bellucia dichotoma* e *Plathyenia reticulata* em ensaios de pré-incubação para as atividades coagulante e de fosfolipase A<sub>2</sub>. Os autores pressupõem que os bloqueios dessas atividades devem ser resultados de ações quelantes entre os componentes dos extratos com íons constituintes de proteínas como o zinco das metaloproteínas ou íons que atuam como cofatores em reações enzimáticas, como o cálcio, que participa tanto nas ações da fosfolipase A<sub>2</sub> como na atividade coagulante. Essa ação quelante foi descrita para substâncias como taninos, flavonoides e outras fenólicas.

### 3.2 Ensaio antimicrobiano:

O ensaio antimicrobiano demonstrou que os extratos possuem atividade de inibição do crescimento de bactérias gram-negativas, gram-positivas e de duas leveduras, quando comparadas com o controle negativo (apenas meio de cultura sem inibidores do crescimento), com destaque para a atividade do extrato hexânico (GRÁFICO 3).

Em estudo anterior com a espécie *C. javitensis* foi observada a atividade do extrato hexânico de galhos em inibir o crescimento de *Corynebacterium glutamicum* e *Staphylococcus aureus*, dos extratos hexânico de folhas e galhos em *Bacillus cereus*, dos extratos metanólicos de folhas e galhos em *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, do extrato metanólico de

folhas em *Serratia marcescens* (todos testados pelo método de difusão em agar) e também da fase acetato de etila obtida a partir do extrato metanólico das folhas sobre *B. cereus* (utilizando o método de microdiluição) (NUNEZ et al, 2016).

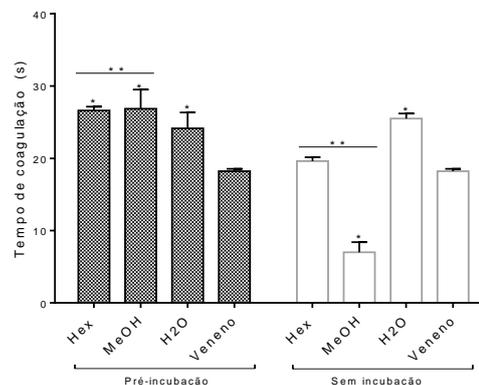


Gráfico 2 - Inibição da atividade coagulante do veneno de *Bothrops atrox* por extratos de *Casearia javitensis*  
 Nota: \*Diferença significativa entre os tratamentos (extratos) e o controle (apenas veneno). \*\* Diferença significativa entre os protocolos de ensaio (com e sem pré-incubação).  $p < 0,05$ . Teste de Tukey.

Dentro do gênero *Casearia*, os terpenos e os esteroides são as classes químicas mais representativas, sendo que muitos podem ser responsáveis pelas atividades biológicas como a antimicrobiana (XU et al, 2014). Pela característica apolar destas substâncias, são isolados a partir dos extratos hexânicos. Em *C. javitensis* já foram encontrados o triterpeno friedelina e indícios dos esteroides  $\beta$ -sitosterol e campesterol (WYREPKOWSKI, 2010; NUNEZ et al, 2016).

### 3.3 Ensaio de toxicidade em *Artemia salina*:

Os extratos de *C. javitensis* foram testados quanto à sua toxicidade em larvas do crustáceo *A. salina* em concentrações entre 1000 e 30  $\mu\text{g/mL}$ . Como demonstra a Tabela 2, os extratos hexano e metanólico de *C. javitensis* apresentaram mortalidade, apesar de baixa, nas concentrações de 1000 e 500  $\mu\text{g/mL}$ . O extrato aquoso apresentou baixo percentual de mortalidade em 500  $\mu\text{g/mL}$ . Segundo Meyer et al (1982), para ser considerado citotóxico o extrato deve apresentar atividade acima de 50% de mortalidade de larvas na concentração de 1000  $\mu\text{g/mL}$ . Desta forma, assim como os resultados obtidos por Nunez et al (2016), os extratos não apresentaram toxicidade.

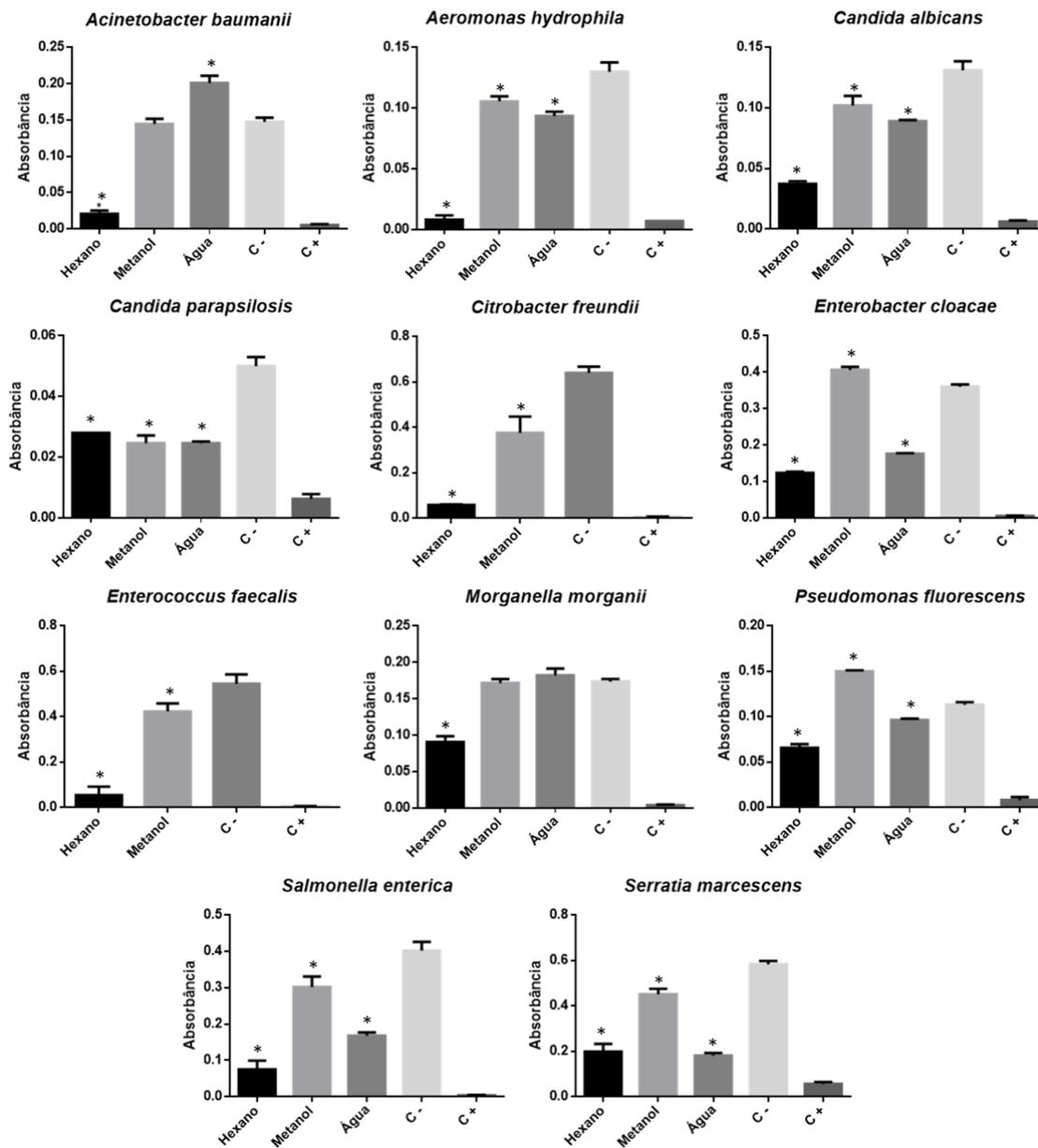


Gráfico 3 - Atividade antimicrobiana dos extratos de *Casearia javitensis* a 1 mg/mL.

Nota: \*Diferença significativa entre os tratamentos (extratos) e o controle negativo (meio de cultura).  $p < 0,05$ . Teste de Dunnett.

Tabela 1 Ensaio de toxicidade dos extratos de *C. javitensis* expresso em porcentagem de mortalidade de *A. salina*

Extrato	Concentração utilizada ( $\mu\text{g/mL}$ )					
	1000	500	250	125	60	30
492 F HEX	10%	3%	0%	3%	0%	0%
492 F MeOH	17%	0%	0%	0%	0%	0%
492 F H <sub>2</sub> O	0%	7%	3%	3%	3%	3%
DMSO	0%					
H <sub>2</sub> O	0%					



#### 4. Conclusão

O protocolo de pré-incubação mais uma vez superestimou a atividade de um extrato ao demonstrar as propriedades inibidoras de PLA<sub>2</sub> dos extratos de *Casearia javitensis*. Porém, segundo Moura e colaboradores (2014), apesar de muitos estudos terem utilizado este protocolo para avaliar o potencial de extratos vegetais de inibir atividades de venenos ofídicos, este método de pré-incubação, pode superestimar a atividade bloqueadora dos extratos de ações enzimáticas dos venenos. Ao serem testados no ensaio sem pré-incubação, os extratos de *C. javitensis* não foram eficazes. Da mesma forma, o ensaio de coagulação com pré-incubação também não é ideal para a determinação desta atividade. No ensaio sem incubação prévia, os extratos de *C. javitensis* não foram eficientes para inibir ou retardar a atividade coagulante e o extrato metanólico foi capaz de acelerar a coagulação do plasma.

Com relação à atividade antimicrobiana, os extratos de *C. javitensis* tem potencial inibitório frente a bactérias gram-positivas, gram-negativas e duas leveduras, que podem estar presentes em infecções comuns e em infecções secundárias como no caso de acidentes ofídicos. É relevante aprofundar o estudo desta atividade, principalmente em virtude do surgimento de microrganismos resistentes aos antibióticos comerciais.

Os extratos de *C. javitensis* não foram considerados tóxicos sobre larvas de *A. salina*. Porém, por ser um ensaio muito preliminar, outros ensaios de verificação de toxicidade mais elaborados devem ser realizados.

Para a espécie *C. javitensis* já foi relatada a presença de  $\beta$ -sitosterol, indícios do triterpeno friedelina e do esteroide campesterol, substâncias aromáticas e um fenol-glicosídeo denominado 4-hidroxifenil-6-cafeoil- $\beta$ -L-glicosídeo (WYREPKOVSKI, 2010; NUNEZ et al, 2016). Porém, para determinação mais efetiva das atividades biológicas e de qual substância é responsável por elas, mais estudos são recomendados. Foi demonstrado que existe um potencial nesta espécie de *Casearia* que deve ser melhor investigado, pois os resultados obtidos até o momento demonstram a ação apenas de extratos brutos e não de frações ou de substâncias isoladas.

#### Agradecimentos

As autoras deste trabalho agradecem à Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA pelo apoio institucional e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro.

#### Divulgação

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. O(s) autor(es) e revisores não relataram qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

#### Referências

- ALBANO, Micheline N.; SILVEIRA, Márcia R.; DANIELSKI, Lucineia Gainski; FLORENTINO, Drielly; PETRONILHO, Fabrícia; PIOVEZAN, Anna P. Anti-inflammatory and antioxidant properties of hydroalcoholic crude extract from *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae). **J Ethnopharmacol.**, v. 147, n. 3, p. 612-617, 2013.
- BARBOSA, E.A.S. **Efeitos de extratos de *Casearia javitensis* Kunth (Salicaceae) sobre *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera, Curculionidae)**. 2015. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Entomologia), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2015.
- BENTO, T.S.; TORRES, L.M.B., FIALHO, M.B.; BONONI, V.L.R. Growth inhibition and antioxidative response of wood decay fungi exposed to plant extracts of *Casearia* species. **Letters in Applied Microbiology**, v. 58, p. 79-86, 2013.
- BORGES, M.H.; SOARES, A.M.; RODRIGUES, V.M.; OLIVEIRA, F.; FRANSCHESCHI, A.M.; RUCAVADO, A.; GIGLIO, J.R.; HOMSI-BRANDEBURGO, M.I. Neutralization of proteases from *Bothrops* snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). **Toxicon**, v. 39, p. 1863-1869, 2001.
- BORGES, Márcia H.; SOARES, Andreimar M.; RODRIGUES, Veridiana M.; ANDRIÃO-ESCARSO, Sílvia H.; DINIZ, Heyder; HAMAGUCHI, Amélia; QUINTERO, Aristides; LIZANO, Sérgio; GUTIÉRREZ, José M.; GIGLIO, José R.; HOMSI-BRANDEBURGO, Maria I. Effects os aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on



actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A<sub>2</sub>. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 127, p. 21-30, 2000.

BOU, Diego Dinis; LAGO, João Henrique G.; FIGUEIREDO, Carlos R.; MATSUO, Alisson L.; GUADAGNIN, Rafael C.; SOARES, Marisi G.; SARTORELLI, Patricia. Chemical composition and cytotoxicity evaluation of essential oil from leaves of *Casearia sylvestris*, its main compound-zingiberene and derivatives. **Molecules**, v. 18, p. 9477-9487, 2013.

BOU, Diego Dinis; TEMPONE, André G.; PINTO, Érika G.; LAGO, João Henrique G.; SARTORELLI, Patricia. Antiparasitic activity and effect of casearins isolated from *Casearia sylvestris* on *Leishmania* and *Trypanosoma cruzi* plasma membrane. **Phytomedicine**, v. 21, p. 676-681, 2014.

BRANT, Nayara M.F.; GASPAROTTO, Francielly M.; ARAÚJO, Valdinei O.; MARASCHIN, Jhonatan C.; RIBEIRO, Rita C.L.; LOURENÇO, Emerson L.B.; CARDOZO JUNIOR, Euclides L.; GASPAROTTO JUNIOR, Arquimedes. Cardiovascular protective effects of *Casearia sylvestris* Swartz in Swiss and C57BL/6 LDLr-null mice undergoing high fat diet. **Journal of Ethnopharmacology**, v.154, p. 419-427, 2014.

CAMARGO, T.M.; NAZATO, V.S.; SILVA, M.G.; COGO, J.C.; GROppo, F.C.; OSHIMA-FRANCO, Y. *Bothrops jararacussu* venom-induced neuromuscular blockade inhibited by *Casearia gossypiosperma* briquet hydroalcoholic extract. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 16, n. 3, p. 432-441, 2010.

CAMPOS, Evandro P.; TROMBINI, Letícia N.; RODRIGUES, Rafaela; PORTELLA, Décio L.; WERNER, Adriana C.; FERRAZ, Miriele C.; OLIVEIRA, Robson V.M.; COGO, José C.; OSHIMA-FRANCO, Yoko; ARANHA, Norberto; GERENUTTI, Marli. Healing activity of *Casearia sylvestris* Sw. in second-degree scald burns in rodents. **BMC Res Notes**, v. 8, n. 269, 2015.

CAVALCANTE, W.L.G.; CAMPOS, T.P.; DAL PAI-SILVA, M.; PEREIRA, P.S.; OLIVEIR, C.Z.; SOARES, A.M.; GALLACCI, M. Neutralization of snake venom phospholipase A<sub>2</sub> toxins by aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) in mouse neuromuscular preparation. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 3, p. 490-497, 2007.

CAVALHEIRO, Amanda Henriques; GODOI, Ana Paula Terossi; DE CARVALHO, Tatiane Cruz; CATIRSE, Alma Blasida; FURTADO, Niege Araçari J.C. Antimicrobial potential of *Casearia sylvestris* against oral bacteria. **Rev Odontol UNESP**, v. 45, n. 4, p. 214-218, 2016.

CINTRA-FRANCISCHINELLI, M; SILVA, M.G.; ANDRÉO-FILHO, N., GERENUTTI, M.; CINTRA, A.C.O.; GIGLIO, J.R.; LEITE, G.B.; CRUZ-HÖFLING, M.A; RODRIGUES-SIMIONI, L.; OSHIMA-FRANCO, Y. Antibiothropic action of *Casearia sylvestris* Sw. (Flacourtiaceae) extracts. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 3, p. 784-790, 2008.

CORRÊA, P. G. **Defesas Foliaves em Resposta à Herbivoria em Espécies Lenhosas de Restinga, Ipojuca - PE**. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Pós-Graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2007.

COSTA, I. R.; ARAÚJO, F. S.; LIMA-VERDE, L. W. Flora e aspectos auto-ecológicos de um enclave de cerrado na chapada do Araripe, Nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasileira**, v 18, n.4, p. 759-770, 2004.

DO, ThaoT.; NGUYEN, Hung V.; CHAU, Minh V.; PHA, Cuong. Cytotoxic clerodane diterpenoids from the leaves of *Casearia grewiifolia*. **Journal of Natural Products**, v. 78, n. 11, p. 2726-2730, 2015.

ESPINOSA, J.; MEDEIROS, L.F.; SOUZA, A.; GÜNTZEL, A.R.C.; RÜCKER, B.; CASALI, E.A.; ETHUR, E.M.; WINK, M.R.; TORRES, I.L.S. Ethanol extract of *Casearia sylvestris* Sw exhibits in vitro antioxidant and antimicrobial activities and in vivo hypolipidemic effect in rats. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.2, p.305-315, 2015.

FELIPE, Karina B.; KVIECINSKI, Maicon R.; SILVA, Fabiana O.; BÜCKER, Nádia F.; FARIAS, Mirelle S.; CASTRO, Luiza, S.E.P.W.; GRINEVICIUS, Valdelúcia M.A.S.; ROSSI, Maria H.; PEDROSA, Rozangela. Inhibition of tumor proliferation associated with cell cycle arrest caused by extract and fraction from *Casearia sylvestris* (Salicaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 155, p. 1492-1499, 2014.

FERREIRA, Paulo Michel P.; COSTA-LOTUFO, Letícia V.; MORAES, Manoel O.; BARROS, Francisco W.A.; MARTINS, AlinE M.A.; CAVALHEIRO, Alberto J.; BOLZANI, Vanderlan S.; SANTOS, André G.; PESSOA, Cláudia. Folk uses and pharmacological properties of *Casearia sylvestris*: a medicinal



review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 83, n. 4, p. 1373-1384, 2011.

GUTIÉRREZ, José Maria; LOMONTE, Bruno. Phospholipases A2: Unveiling the secrets of a functionally versatile group of snake venom toxins. **Toxicon**, v. 62, p. 27-39, 2012.

KULCHETSKI, Luiz; QUAQUARELLI, César Augusto; LIMA, Pedro Ribeiro. A guaçatonga (*Casearia sylvestris* Sw.) e seu uso potencial como fitoterápico: um resultado prático de trabalho extensionista no Distrito de Itaiacoca. **Revista Conexão UEPG**, v. 2, n. 1, 2006.

LUIZ, Anderson L.; PERLATTI, Bruno; MARQUES, Fabiana A.; RODRIGUES FILHO, Edson; COSTA, Eduardo N.; RIBEIRO, Zulene A.; EDUARDO, Wellington; BOIÇA-JUNIOR, Arlindo; IMATOMI, Maristela; GORECKI, Radeusz; FORIM, Moacir R. Efficacy of botanical extracts from Brazilian savannah against *Diabrotica speciosa* and associated bacteria. **The Ecological Society of Japan**, v. 32, p. 435-444, 2017.

MESQUITA, Mariana Laundry De; DESRIVOT, Julie; BORIES, Christian; FOURNET, Alain; DE -PAULA, José Elias; GRELLIER, Philippe; ESPINDOLA, Laila Salmen. Antileishmanial and trypanocidal activity of Brazilian Cerrado plants. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 7, p. 783-787, 2005.

MEYER, B. N. et al. Brine Shrimp: A convenient general Bioassay for Active Plant Constituents. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 45, p. 31-34, 1982.

MOURA, V. M., BEZERRA, A. N. S., MOURÃO, R. H. V., LAMEIRAS, J. L. V., RAPOSO, J. D. A., SOUSA, R. L., BOECHAT, A. L., OLIVEIRA, R. B., CHALKIDIS, H. M., DOS-SANTOS, M. C. A comparison of the ability of *Bellucia dichotoma* Cogn. (Melastomataceae) extract to inhibit the local effects of *Bothrops atrox* venom when pre-incubated and when used according to traditional methods. **Toxicon**, v. 85, p. 59-68, 2014.

MOURA, V.M., SILVA, W.C.R., RAPOSO, J.D.A., FREITAS-DE-SOUSA, L.A., DOS-SANTOS, M.C., OLIVEIRA, R.B., MOURÃO, R.H.V. The inhibitory potential of the condensed tannin-rich fraction of *Plathymenia reticulata* Benth. (Fabaceae) against *Bothrops atrox* envenomation. **J. Ethnopharmacology**, v. 183, p. 136-142, 2016.

MOURA, Valéria Mourão De; SOUZA, Luana Yamille Andrade; GUIMARÃES, Noranathan Da Costa; SANTOS, Iliá Gilmará Carvalho Dos; ALMEIRA,

Patrícia Danielle Oliveira De; OLIVEIRA, Ricardo Bezerra De; MOURÃO, Rosa Helena Veras; DOS-SANTOS, Maria Cristina. The potential of aqueous extracts of *Bellucia dichotoma* Cogn. (Melastomataceae) to inhibit the biological activities of *Bothrops atrox* venom: A comparison of specimens collected in the states of Pará and Amazonas, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 196, p. 168-177, 2017.

NGUYEN, Ha T. T.; TRUONG, Ngan B.; DOAN, Huang T. M.; LITAUDON, Marc; RETAILLEAU, Pascal; NUANYAI, Thanesuan; CHAILAP, Benjamat; BUAKEAW, Anumart; PUTHONG, Songchan. Cytotoxicity of clerodane diterpenoids from the leaves of *Casearia grewiifolia*. **J. Nat. Prod.**, v. 78, n. 11, p. 2726-2730, 2015.

NUANYAI, Thanesuan; CHAILAP, Benjamat; BUAKEAW, Anumart; PUTHONG, Songchan. Cytotoxicity of clerodane diterpenoids from fresh ripe fruits of *Casearia grewiifolia* Songklanakarin. **J. Sci. Technol**, v.39, n. 4, p. 517-521, 2017.

NUNEZ, Cecilia Veronica; FACHIN-ESPINAR, Maria Teresa; SOUZA, Maria Carolina Scheffer. Isolamento de 4-hidroxifenil-6-cafeoil- $\beta$ -L-glicosídeo e  $\beta$ -sitosterol e avaliação das atividades antibacteriana, antioxidante e tóxica sobre *Artemia salina* de *Casearia javitensis*. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 3, p. 220-372, 2016.

PEREIRA, Flaviane G.; MARQUETTE, Ronaldo; DOMINGOS, Levy T.; ROCHA, Marco E.N.; FERREIRA-PEREIRA, Antonio; MANSUR, Elisabeth; MOREIRA, Davyson L. Antifungal activities of the essential oil and its fractions rich in sesquiterpenes from leaves of *Casearia sylvestris* Sw. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 4, p. 2817-2824, 2017.

PRIETO, Aline M.; DOS SANTOS, André G.; OLIVEIRA, Ana Paula S.; CAVALHEIRO, Alberto J.; SILVA, Dulce H.S.; BOLZANI, Vanderlan S.; VARANDA, Eliana AP.; SOARES, Christiane P. Assessment of the chemopreventive effect of casearin B, a clerodane diterpene extracted from *Casearia sylvestris* (Salicaceae). **Food and Chemical Toxicology**, v. 53, p. 153-159, 2013.

SANTOS, Augusto L.; YAMAMOTO, Eduardo S.; PASSERO, Luiz Felipe; LAURENTINI, Márcia D.; MARTINS, Ligia F.; LIMA, Marta L.; UEMI, Miriam; SOARES, Marisi G.; LAGO, João Henrique; TEMPONE, Andre G.; SARTORELLI, Patricia. Antileishmanial activity and immunomodulatory effects of triclin isolated from leaves of *Casearia*



Biotecnologia

*arborea* (Salicaceae). **Chem Biodivers**, v. 14, n. 5, 2017.

SILVA, Saulo L.; CALGAROTTO, Andrana K.; CHAAR, Jamal. S.; MARANGONI, Sérgio. Isolation and characterization of ellagic acid derivatives isolated from *Casearia sylvestris* SW aqueous extract with anti-PLA<sub>2</sub> activity. **Toxicon**, v. 52, p. 655–666, 2008.

SILVA, Saulo L.; CHAAR, Jamal Da S.; YANO, Tomomasa. Chemotherapeutic potential of two gallic acid derivative compounds from leaves of *Casearia sylvestris* Sw (Flacourtiaceae). **European Journal of Pharmacology**, v. 608, p. 76–83, 2009.

WYREPKOVSKI, Claudia Dantas Comandolli. **Estudo fitoquímico e bioatividade de extratos de *Casearia javitensis* Kunth**. 2010. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2010.

XIA, L.; GUO, Q.; TU, P.; CHAI, X. The genus *Casearia*: a phytochemical and pharmacological overview. **Phytochemistry Reviews**, v. 14, p. 99-135, 2014.

XU, Jing; JI, Feifei; SUN, Xiaocong; CAO, Xiangrong; LI, Shen; OHIZUMI, Yasushi; GUO, Yuanqiang. Characterization and Biological Evaluation of Diterpenoids from *Casearia graveolens*. **J Nat Prod**, v. 78, n. 11, p. 2648-56, 2015.

XU, Jing; ZHANG, Qiang; WANG, Meicheng; REN, Quanhui; SUN, Yihang; JIN, Da-Quing; XIE, Chunfeng; CHEN, Hongqiang; OHIZUMI, Yasushi; GUO, Yunqiang. Bioactive Clerodane Diterpenoids from the Twigs of *Casearia balansae*. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 10, p. 2182-2189, 2014.