

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta Dissertação de Mestrado será disponibilizado somente a partir de 22/02/2019.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS - CAMPUS DO LITORAL PAULISTA SÃO
VICENTE

Avaliação de compostos polifenólicos da *Laguncularia racemosa* sobre a atividade enzimática e farmacológica de serino proteases de *Crotalus durissus terrificus*.

Caroline Ramos da Cruz Costa

São Vicente-SP

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS – CAMPUS DO LITORAL PAULISTA SÃO
VICENTE

Avaliação de compostos polifenólicos da *Laguncularia racemosa* sobre a atividade enzimática e farmacológica de serino proteases de *Crotalus durissus terrificus*.

Mestrando: Caroline Ramos da Cruz Costa

Orientador: Prof. Dr. Marcos Hikari Toyama

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biociências do Litoral Paulista, UNESP, para
obtenção do título de Mestre no Programa
de Pós-Graduação em Biodiversidade
Aquática

São Vicente-SP

2018

615.32 Costa, Caroline Ramos da Cruz

R618 Avaliação de compostos polifenólicos da *Laguncularia racemosa* sobre a atividade enzimática e farmacológica de serino proteases de *Crotalus durissus terrificus* / Caroline Ramos da Cruz Costa. - São Vicente, 2018.

69 p.: il, figs., gráfs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Campus do Litoral Paulista - Instituto de Biociências.

Orientador: Marcos Hikari Toyama

1. Farmacologia. 2. *Laguncularia racemosa*. 3. *Crotalus durissus terrificus*. 4. Foslipase A2. 5. Serino Protease. 6. Estresse oxidativo. 7. Extratos vegetais. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca da UNESP

Campus do Litoral Paulista

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Avaliação de compostos polifenólicos da *Laguncularia racemosa* sobre a atividade enzimática e farmacológica de serino proteases de *Crotalus durissus terrificus*.

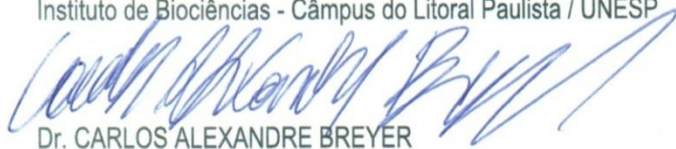
AUTORA: CAROLINE RAMOS DA CRUZ COSTA

ORIENTADOR: MARCOS HIKARI TOYAMA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em BIODIVERSIDADE AQUÁTICA, área: BIODIVERSIDADE pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. MARCOS HIKARI TOYAMA
Instituto de Biociências - Câmpus do Litoral Paulista / UNESP



Dr. CARLOS ALEXANDRE BREYER
Faculdade de Ciências Farmacêuticas / USP



Prof. Dr. LUIZ FELIPE DOMINGUES PASSERO
Instituto de Biociências - Câmpus do Litoral Paulista / UNESP

São Vicente, 22 de fevereiro de 2018

*Dedico este
trabalho a minha família,
em especial ao meu
esposo, que me apoiou
durante todo o tempo:
Jaime sem seu apoio
tudo seria muito mais
difícil!*

"Aprenda como se você fosse viver para sempre, viva como se você fosse morrer amanhã".(Santo Isidoro de Sevilla)

Agradecimentos

Quero agradecer primeiramente a Deus por ter me concedido saúde suficiente para concluir este trabalho. Quero agradecer ao Prof. Dr. Marcos Hikari Toyama, por toda estrutura fornecida para o desenvolvimento e conclusão deste projeto, mas quero agradecer também, sua atenção, paciência, dedicação e orientação, não há palavras para descrever minha admiração pelo profissional que você é, muito obrigada por tudo!

Quero agradecer também aos professores Doutores que compõem esta banca, muito obrigado por terem aceitado este convite, e fazerem parte desta fase tão importante da minha vida.

Quero agradecer aos meus colegas e amigos do BIOMOLPEP, Ms. Mariana Novo Belchor, Ms. Caroline Fabri Rogues, Ms. Henrique Gaeta, Bruna Ortolan, Daniele Novaes e Adeilso Bispo Jr, obrigada a todos por cada conselho, dica, auxílio, correção, por cada minuto, vocês são os melhores; Mas meu agradecimento mais especial dentre todos vai para a Ms. Mariana Belchor (Alfa), Obrigada por absolutamente tudo, por cada minuto!

LISTA DE ABREVIATURAS

ARA	Quercetina-3- O -arabinoside
Cdt	<i>Crotalus durissus terrificus</i>
Cdtsp2	<i>Crotalus durissus terrificus serinoprotease 2</i>
COX-2	Cicloxygenase-2
cPLA	Fosfolipase A citossólica
Dexa	Dexametasona
CLAE	Cromatografia líquida de alta performance (High Performance Liquid Chromatography)
HPx	Hidroperóxidos
IFN- γ	Interferon gama
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-6	Interleucina-6
IP3	inositol 1,4,5-trisphosphate
LPS	Lipopolissacarídeos
MDA	Malondialdeído
NO	Oxido Nitrico
$\cdot$ OH	Radical hidroxila
PDB	Protein Data Bank
PGE2	Prostaglandina E2
PKC	Proteína Quinase C
PLC	Fosfolipase C
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonila
RHAM	Quercetina-3- O -rhamnoside
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SDS-PAGE	Eletroforese em gel de poliacrilamida sob condição desnaturante
SEC	Cromatografia de exclusão molecular
sPLA2	Fosfolipase A ₂ secretória
Tris	Tris(hidroximetil) aminometano

Resumo:

A giroxina é a principal serino protease encontrada no veneno total de *Crotalus durissus terrificus*. As serino proteases de veneno de serpentes são proteínas que apresentam uma grande similaridade estrutural com a trombina humana incluindo a alta conservação do sítio catalítico. Os resultados já obtidos pelo nosso grupo revelaram a capacidade dos flavonoides glicosilados de *Laguncularia racemosa* em reduzir de forma significativa a atividade enzimática das trombins humanas. A identificação destas moléculas revelou que dois flavonoides glicosilados (quercetina-3-O-arabinosídeo (QAra) e quercetina-3-O-ramnosídeo (QRham)) respondem pela inibição da trombina (Rodrigues et al., 2015). Sabe-se que a soroterapia antiveneno não consegue neutralizar de forma eficiente a ação farmacológica das serino proteases e consequentemente não é capaz de neutralizar os danos homeostáticos e teciduais. Neste trabalho, uma nova serino protease foi isolada do veneno total de *Crotalus durissus terrificus* (cdtsp-2) através de quatro etapas de separação, usando a superdex 75 com uma fase móvel de bicarbonato de amônia pH 8, a cdtsp-2. Estas duas frações foram então fracionadas em coluna de troca iônica em DEAE para separação das principais frações e posteriormente fracionadas em CLAE de fase reversa para confirmar o grau de homologia molecular e em todas as etapas cromatográfica foram acompanhadas pelos ensaios enzimáticos em BApNA. A nova serino protease denominada como Cdtsp-2 (*Crotalus durissus terrificus* serino protease 2) é uma proteína inédita, tem massa molecular de 27 kDa e sua sequência N-terminal mostrou diferenças estruturais quando comparada a giroxina de *Crotalus durissus terrificus* e os resultados mostram que a *Crotalus durissus terrificus* possui uma concentração relativa de serino proteases maior do que a sugerida na literatura. As atividades edematogênicas e miotóxicas foram padronizadas e comparadas com grupos tratados com QAra, QRham, inibidores de PKC, PLCs, Dexametasona e antagonistas para receptores ativados por protease (PAR) e solução salina (controle negativo). Durante o edema e os testes miotóxicos também detectamos de malondialdeído, PGE2 e COX-2. Nossos resultados mostraram que o edema induzido por Cdtsp2 não pode ser inibido pelos flavonóides de *Laguncularia racemosa* e envolve níveis significativamente aumentados de peroxidação lipídica e metabolismo do ácido araquidônico e ambos foram significativamente diminuídos pelo antagonista de PAR, PKC e inibidor de PLC e praticamente abolidos na presença de Dexametasona. Conclusão: nossos resultados mostraram que as atividades farmacológicas induzidas por Cdtsp2 envolvem presença de antagonistas de PAR 1, 2, ativação de PLC, PKC para mobilização de ácido araquidônico e aumento do estresse oxidativo.

Palavras chaves: Cdtsp2 serina protease; *Crotalus durissus terrificus* (Cdt); secretória PLA2 (sPLA2); edema; inflamação; estresse oxidativo, receptor ativado por protease, COX-2 e MDA.

Abstract:

Gyroxin is the major serine protease present in *Crotalus durissus terrificus* venom. Serine proteases from snake venom are proteins, which exhibit a great structural similarity to hμMan thrombin including the catalytic site conservation. The results already obtained by our group revealed the glycosylated flavonoids ability of *Laguncularia racemosa* significantly reduce the enzymatic activity of hμMan thrombins. The molecules identification reveals two glycosylated flavonoids (quercetin-3-O-arabinosidiμM (QAra) and quercetin-3-O-rhamnosidiμM(QRham)), which inhibit thrombin (Rodrigues et al., 2015). Antivenomserotherapy can not efficiently neutralize the serine proteases pharmacological action and is not able to neutralize homeostatic and tissue damage. In this work, a new serine protease was isolated from *Crotalus durissus terrificus* venom (cdtsp-2) by through four separation stages, using superdex 75 with a mobile phase of ammoniμM bicarbonate pH 8. These two fractions were fractionated on ion exchange colμMn in DEAE for separation of the major fractions and subsequently fractionated in reverse phase CLAE to confirm the degree of molecular homology. All chromatographic steps were monitored by the enzymatic assays in BApNA. The new serine protease called cdtsp-2 (*Crotalus durissus terrificus* serine protease 2) is an unpublished protein, with a molecular mass of 27 kDa and its N-terminal sequence showed structural differences when compared to the gyroxin of *Crotalus durissus terrificus*. Results reveal that in this venom has a higher relative concentration of serine proteases than suggested in the literature. The edematogenic and myotoxic activities were standardized and compared to groups treated with QAra, QRham, PKC inhibitors, PLCs, Dexamethasone and protease (PAR) and saline (negative control) activated receptor antagonists. During edema and myotoxic assay we also detection of malondealdehyde, PGE2 and COX-2. Results reveals Cdtsp2 -induced edema no can be inhibited by the flavonoids of *Laguncularia racemosa* involves significantly increased levels of lipid peroxidation and arachidonic acid metabolism and both were significantly decreased by the PAR antagonist, PKC and PLC inhibitor and virtually abolished in the presence of Dexamethasone. Conclusion: The pharmacological activities induced by Cdtsp2 involves the presence of PAR 1, 2 antagonists, PLC activation, PKC to mobilize arachidonic acid and increase oxidative stress.

Keywords: Cdtsp2; serine protease; *Crotalus durissus terrificus* (Cdt); secretory PLA2 (sPLA2); edema; inflammation; oxidative stress, protease activated receptor, COX-2 and MDA

SuMário

CONTEXTUALIZAÇÃO GERAL	12
Objetivos:	15
Objetivo específico: Capítulo 1:	15
Objetivo específico: Capítulo 2:	15
Objetivo específico: Capítulo 3:	15
CAPÍTULO 1- PURIFICAÇÃO DA SERINO PROTEASE (Cdtp2).	16
1.Introdução: Serino-proteases de venenos.	16
2. Materiais e Metodos:	18
2.1. Cromatografia de exclusão molecular em CLAE	18
2.2. Cromatografia de Troca iônica em coluna Protein Pack DEAE 5PW.	19
2.3. Cromatografia de fase reversa.	19
2.4. Análise do grau de pureza da toxina.	20
2.5. Eletroforese em PAGE-SDS.	20
2.6. Eletroforese Bidimensional.	20
2.7. Avaliação do Tempo de trombina.	21
2.8. Atividade Fibrinogenolítica.	21
2.9. Dicroísmo Circular.	21
2.10. Determinação da Estrutura Primária.	22
2.11. Modelagem através de homologia.	22
3. Resultados e Discussão	22
CAPÍTULO 2- CARACTERIZAÇÃO ANTI-INFLAMATÓRIA E ANTI-MIOTÓXICA DA LANGUNCMLARIA RACEMOSA.	32
1. Introdução:Laguncularia racemosa	32
2. Material e Método:	34
2.1. Coleta e identificação do material vegetal	34
2.2. Obtenção dos extratos metanólico e hidroalcoólico	34
2.3. Obtenção das fases de partição do extrato hidroalcoólico bruto	35
2.4. Isolamento e Caracterização Estrutural de Flavonóides Glicosilados	35
2.5. Ensaio enzimático de inibição da Cdtp2.	37
2.6. Avaliação do edema de pata protocolo de pós tratamento.	38
2.7. Atividade miotóxica	38
2.8. Análise estatística.	38
3. Resultados e Discussão:	39
CAPÍTULO 3-INFLAMAÇÃO E MECANISMO	43
Artigo científico – Toxins	43
CONCLUSÕES:	57
1. Conclusão capítulo 1.	57
2. Conclusão Capítulo 2	57
3. Conclusão Capítulo 3 - Artigo Toxins	57
REFERÊNCIAS:	58

CONTEXTUALIZAÇÃO GERAL

Os acidentes ofídicos têm sido considerados um grave problema de saúde pública no Brasil e no mundo. A grande maioria dos acidentes ocorre nos países localizados em regiões tropicais e subtropicais (Kasturiratne et al., 2008; Warrell, 2010; Willians et al., 2010; Adukauskienė et al., 2011). Os envenenamentos ofídicos atingem aproximadamente 420.000 mil a 2.280.000 milhões de pessoas por ano, sendo que dessas, cerca de 20.000 a 125.000 evoluem para o óbito (Kasturiratne et al. 2008; Warrell, 2010; Willians et al., 2010; Huancahure et al., 2011). Porém não é apenas devido à frequência em que ocorrem, mas também à morbidade e mortalidade que ocasionam, desta forma, historicamente constituem um problema crônico de saúde pública.

Na América do Sul, o Brasil é o país com maior incidência de acidentes ofídicos, sendo que as regiões Nordeste e Norte lideram em número de casos (Lima et al., 2009; Nadur-Andrade et al., 2012). De acordo com os dados publicados pelo Ministério da Saúde do Governo Federal, apresentados na tabela 1, os estados mais afetados em número de mortes por acidentes com ofídicos são Norte e Nordeste.

Tabela 1. Os dados da tabela abaixo são referentes ao ano de 2016 (Ministério da Saúde- Governo Federal.)

Região	Incidência a cada 100.000 habitantes.	Casos de acidentes com ofídios.	Números de óbitos
Norte	48,8	8.638	38
Nordeste	12,4	7.034	39
Sudeste	6,2	5.339	19
Sul	8,1	2.385	05
Centro oeste	18,2	2.848	15
Brasil (Geral)	12,7	26.244	116

Entretanto, esses dados não demonstram a realidade, pois a subnotificação é frequente entre os moradores de áreas rurais que têm dificuldade no acesso aos serviços de saúde (Calvete et al., 2009; Warrell, 2010; Willians et al., 2010; Bernade; Gomes, 2011). Por isso, no ano de 2009 a Organização Mundial de Saúde (OMS) passou a

considerar esse agravo de saúde como Doença Tropical Negligenciada (DTN) tendo como objetivo garantir uma maior visibilidade e, conseqüentemente, estimular a elaboração de políticas públicas visando diminuir os problemas decorrentes do envenenamento causado pelas serpentes (Gutiérrez et al., 2010)

Segundo a secretaria da saúde, os efeitos do envenenamento por serpentes crotálicas são: edemas agudos, dor reduzida, miotoxicidade e neurotoxicidade e acometimento renal, causando insuficiência renal aguda, a qual é a principal complicação e causa de óbito. Clinicamente, o veneno de *Crotalus durissus terrificus* não costuma causar efeitos no local da mordida e é geralmente indolor. (FURTADO; SANTOS; KAMIGUTI, 2003; RÁDIS-BAPTISTA; KERKIS, 2011; YONAMINE et al., 2012). O veneno total de *Crotalus durissus spp.* é uma mistura complexa de substâncias, tais como crotamina, giroxina, crotoxina (um complexo formado pela fosfolipase A2 e crotapotina), peptídeos com atividade calicreína-símile, serino proteases tipo trombina-símile, fosfodiesterase, 5'-nucleotidase, L-aminoácido-oxidase, convulxina, e peptídeos biologicamente ativos (MAGRO et al., 2001). Por outro lado, o veneno é pouco imunogênico apesar de ser claramente tóxico e potencialmente letal. Além disso, o prejuízo sofrido pelos animais após a injeção de veneno bruto contribui para a baixa produtividade do antídoto específico para o veneno total de *Crotalus durissus terrificus* (FERREIRA JUNIOR et al., 2005).

Até o presente momento o único tratamento eficaz para o envenenamento do ponto de vista sistêmico é a administração de soro antiofídico específico ou antiveneno policlonal anti-botropico ou anti-crotálico (Hifumi et al., 2015). No entanto, danos já instalados causados devido a ação enzimática de determinadas proteínas como por exemplo as serino proteases não são revertidas e/ou neutralizadas pelo soro antiofídico. Sendo assim, se faz necessário a procura de novos métodos coadjuvantes para neutralizar a ação farmacológica induzida a nível celular por determinadas proteínas, como forma de auxiliar o tratamento do envenenamento (Picolo et al 2002).

Durante todo o processo de evolução humana, as plantas tem sido importantes fontes de agentes terapêuticos . Produtos naturais advindos de microorganismos, algas e plantas constituem cerca de 50% dos farmacos existentes (Gurib-Fakim 2006). A investigação sobre as possíveis aplicações destes produtos naturais sobre determinados

tipos de doenças está condicionado aos resultados de uma bateria de ensaios realizados tanto “*in vitro*” quanto “*in vivo*” (Toyama *et al.*, 2009).

Li e colaboradores em 2009; Miles e colaboradores em 1999; Sharaf e colaboradores em 2000 e Wu e colaboradores em 2008, mostram em seus estudos que as plantas do mangue sintetizam compostos bioativos que podem ser utilizados na área médica, agrônômica, cosmética e outras relacionadas na forma de sais, ácidos orgânicos, carboidratos, hidrocarbonetos, benzoquinonas, naftofuranos, sesquiterpenos, triterpenos, alcalóides, flavonóides, polímeros, derivados sulfurosos e taninos.

Estudos farmacológicos e biológicos, demonstraram atividades diversas por parte de extratos de espécies presentes em manguezais, como: antioxidante (Sánchez *et al.*, 2006; Berenguer *et al.*, 2006; Sánchez *et al.*, 2009), cicatrizante (Fernandez *et al.*, 2002), antibacteriano (Melchor *et al.*, 2001; Rotimi *et al.*, 1988; Abeysinghe e Wanigatunge, 2006; Ravikumar *et al.*, 2010), antiinflamatório (Kapil *et al.*, 1994), antitumoral (Loder e Russell, 1969) e antiulceroso (de Faria *et al.* 2012)

Rodrigues CF e colaboradores em 2015 em seu estudo mostraram a capacidade de flavonóides reduzirem significativamente a atividade enzimática da Trombina, devido a estes resultados o nosso grupo acreditou ser capaz de obtermos os resultados similares a estes com outras proteínas tipo trombina-símile e desta forma encontrarmos uma alternativa secundária ao tratamento anti-ofídico.

Objetivos:*Objetivo específico: Capítulo 1:*

Caracterização bioquímica e estrutural da Cdtsp-2 purificada do veneno de *Crotalus durissus terrificus*.

Objetivo específico: Capítulo 2:

Avaliar o efeito da serino protease Cdtsp-2 no aumento do estresse oxidativo celular e o efeito da suplementação de compostos polifenólicos de *Laguncularia racemosa* o efeito edematogênico e mionecrótico induzido por esta nova serino protease do veneno de *Crotalus durissus terrificus*.

Objetivo específico: Capítulo 3:

Caracterização da atividade pró-inflamatória e miotóxica da serino proteases Cdtsp-2, identificando a via de sinalização envolvida no processo inflamatória, investigando o envolvimento de receptores de PAR(s), ativação da proteína G, Fosfolipase C e Proteína quinase C.

CONCLUSÕES:

1. Conclusão capítulo 1.

Foi possível identificar e caracterizar μ Ma nova serino protease encontrada em peçonha de *Crotalus durissus terrificus*, que possui atividades biológicas semelhantes a gioxina, com características de trombina-símile demonstradas pelos ensaios do presente trabalho, possuindo estrutura e sítio catalítico conservado. Porém, a cdtsp-2 possui diferenças contundentes com a gioxina em relação a sua estrutura e características físico-químicas, aumentando então a concentração de serinoproteases presentes no veneno de *Crotalus durissus terrificus*, o que aumenta a problemática do soro antiveneno, uma vez que as serinoproteases não são totalmente neutralizadas pelo tratamento tradicional.

2. Conclusão Capítulo 2

A *Laguncularia racemosa* é uma planta do mangue que apresenta capacidade de inibir a atividade enzimática da trombina humana, por causa da sua rica composição de flavonóides. Estes compostos são descritos na literatura ressaltando sua capacidade antioxidante e assim importantes ao combate ao processo inflamatório. No entanto a nova serino protease purificada do veneno de Cdt, apresenta alta capacidade de indução ao processo inflamatório e mionecrótico, possivelmente muito similar a sPLA2 de veneno de serpentes. Porém, os extratos e compostos puros de *Laguncularia racemosa*, não foram eficientes ao combate aos danos induzidos pela Cdtsp2, ou seja, não se apresentou uma opção adequada para tratamento secundário ao soro antiofídico. Estes resultados foram importantes balizadores para iniciarmos os estudos quanto ao mecanismo de ação da serino protease em questão neste estudo.

3. Conclusão Capítulo 3 - Artigo Toxins

A via de efeito inflamatório proposta envolvida e utilizada por Cdtsp2 para induzir edema por clivagem enzimática do acoplamento do receptor PAR1 o PAR2 com a proteína G que leva a ativação do PLC e PKC que desencadeiam aumento da atividade de cPLA2 pelo aumento do metabolismo do ácido araquidônico e sua interação com estresse oxidativo.

REFERÊNCIAS:

- Adukauskienė, D.; Varanauskienė, E.; Adukauskaitė, A. Venomous snake bite. *Medicina*, v. 47, n. 8, p. 461-467, 2011.
- Andrião-Escarso SH, Sampaio SV, Cunha OAB, Marangoni S, Oliveira B, Giglio JR. Isolation and characterization of a new clotting factor from *Bothrops jararacussu* venom. *Toxicon* 1997; 35 (7): 1043-52
- Alexander, K. A., Wakim, B. T., Doyle, G. S., Walsh, K. A. & Storm, D. R. (1988) *J. Biochem.* 263, 7544-7549
- Arnold I, et al. (2006) Evidence for a novel mitochondria-to-nucleus signalling pathway in respiring cells lacking i-AAA protease and the ABC-transporter Mdl1. *Gene* 367:74-88
- A. Giullietti, R. Harley, L. De Queiroz, M. Wanderley, C. Van den Berg, Biodiversity and conservation of plants in Brazil. *Conservation biology* 19 (3) (2005) 632-639.
- Anais da 62ª Reunião Anual da SBPC - Natal, RN - Julho/2010.
- Andrews, R.K; Berndt, M.C. Snake venom modulators of platelet adhesion receptors and their ligands. *Toxicon*. Jun; 38 (6): 775-91, 2000.
- ALI, S.A; Stoeva, S; Abbasi, A; Alam, J.M; Kaye, R; Faigle, M; Neumeister, B; & Voelter, W. Isolation, structural, and functional characterization of an apoptosis-inducing L-amino acid oxidase from leaf-nosed viper (*Eristocophis macmahoni*) snake venom. *Arch. Biochem. Biophys.* 384, 216-226, 2000.
- A. Mukhopadhyay, P. Stahl, Bee venom Phospholipase A2 is recognized by the macrophage mannose receptor. *Arch Biochem Biophys* 324 (1) (1995) 78-84.
- A.T. Tu, Blood coagulation, venoms chemistry and Molecular Biology, John Wiley & Sons Inc, New York (1977).
- A.T. Tu, Hemorrhage Induced by Snake Venoms. *Taiwan Yi Xue Hui Za Zhi* 81 (1982) 807-818.
- Baride RM. Jain SD, Gaitonde BB. Biochemical studies on the toxoids of venoms of poisonous Indian snakes. *Indian J Med Res.* 1980;72:571-6.
- Bernade, P. S.; Gomes, J. O. Serpentes peçonhentas e ofidismo em Cruzeiro do Sul, Alto Juruá, Estado do Acre, Brasil. *Acta Amazonica*, v. 42, n. 1, p. 1, 2012.
- Biasini, M., Bienert, S., Waterhouse, A., Arnold, K., Studer, G., Schmidt, T. and Schwede, T. (2014). SWISS- MODEL: modeling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. *Nucleic acids research*, Vol 12 gku340.
- Balsinde, J.; Winstead, M. V; Dennis, E. A. Phospholipase A2 regulation of arachidonic acid mobilization. *FEBS Letters*, v. 531, n. 1, p. 2-6, out. 2002.
- Bandaranayake, W. M. Traditional and medicinal uses of mangroves. *Mangroves and salt marshes* v. 164863, p. 133-148, 1998.
- Barbosa, K.B.F., Costa, N.M.B., Alfenas, R.C.G., de Paula, S.O., Minim, V.P.R. and Bressan, J. 2010. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Rev. Nutr.*, Campinas, 23(4), 629-643.
- Bayer, S.B., Maghazal, G., Stocker, R., Hampton, M.B. and Winterbourn, C.C. 2013. Neutrophil-mediated oxidation of erythrocyte peroxiredoxin 2 as a potential marker of oxidative stress in inflammation. *FASEB J.* 27(8), 3315-3322.
- Benipal, B., Feinstein, S.I., Chatterjee, S., Dodia, C. and Fisher, A.B. 2015. Inhibition of the phospholipase A2 activity of peroxiredoxin 6 prevents lung damage with exposure to hyperoxia. *Redox Biol.* 4, 321-327.

- Berlyn, G. P. Coastal trees: the botany of mangroves. *Science* (New York, N.Y.), v. 234, n. 4774, p. 373, 1986.
- Bernade, P. S.; Gomes, J. O. Serpentes peçonhentas e ofidismo em Cruzeiro do Sul, Alto Juruá, Estado do Acre, Brasil. *Acta Amazonica*, v. 42, n. 1, p. 1, 2012.
- Berenguer B, Sánchez LM, Quílez A, López-Barreiro M, de Haro O, Gálvez J, et al. Protective and antioxidant effects of *Rhizophora mangle* L. against NSAID-induced gastric ulcers. *J Ethnopharmacol* [Internet]. 2006;103(2):194–200. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874105005040>
- Biology and Medicine. ed. 4. Oxford: Clarendon Press, 2006.
- Biology and Medicine. v. 23, n. 3, p. 471-472, 1997.
- Brizuela, M., Huang, H.M., Smith, C., Burgio, G., Foote, S.J. and McMorran, B.J. 2014. Treatment of erythrocytes with the 2-cys peroxiredoxin inhibitor, Conoidin A, prevents the growth of *Plasmodium falciparum* and enhances parasite sensitivity to chloroquine. *PLoS One*. 9(4), e92411.
- Bjarnason, J.B & Fox, J.W. Hemorrhagic metalloproteinases from snake venoms. *Pharmacol Ther*. 62(3):325-72, 1994.
- Boffa, M.C; Boffa, G.A. A phospholipase A2 with anticoagulant activity II. Inhibition of the phospholipid activity in coagulation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). Enzymology*, 429 (3), 839-852, 1976.
- Braud, S; Bon C & Wisner, A Snake venom proteins acting on hemostasis. *Biochimie*. 82, (9-10): 851-859, 2000.
- Brazil, O.V; & Fontana, M.D. Toxins as tools in the study of sodium channel distribution in the muscle membrane. *Toxicon* 31: 1085-1098, 1993
- Burke, J. E.; Dennis, E. A. Phospholipase A2 structure/function, mechanism, and signaling. *Journal of lipid research*, v. 50 Suppl, p. S237–42, maio 2009
- Calvette, J. J. et al. Venoms, venomics, antivenomics. *FEBS Letters*, v. 583, n. 11, 1736-1743, 2009.
- Camillo, M.AP., ArrudaPaes,P.C., Troncone, L.R.P.,Rogero,J.R. Gyroxin fails to modify in vitro release of labelled dopamine and acetylcholine from rot and mouse striatal tissue. *Toxicon*, v.39,p.843-853,2001.
- Calixto, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: a personal view. *Journal of ethnopharmacology*, v. 100, n. 1-2, p. 131–4, 22 ago. 2005
- Calvette, J. J. et al. Venoms, venomics, antivenomics. *FEBS Letters*, v. 583, n. 11, 1736-1743, 2009.
- Camillo, M.AP., Arruda Paes,P.C., Troncone, L.R.P.,Rogero,J.R. Gyroxin fails to modify in vitro release of labelled dopamine and acetylcholine from rot and mouse striatal tissue. *Toxicon*, v.39,p.843-853,2001.
- Castrogiovanni, P. and Imbesi, R. 2012. Oxidative stress and skeletal muscle in exercise. *Ital J Anat Embryol*. 117(2), 107-117.
- Chiricozzi, E., Fernandez-Fernandez, S., Nardicchi, V., Almeida, A., Bolanos, J.P., Goracci, G. 2010. Group IIA secretory phospholipase A2 (GIIA) mediates apoptotic death during NMDA receptor activation in rat primary cortical neurons. *J Neurochem* 112(6), 1574-1583.
- Da Silva, N.J., Aird, S.D., Seebart, C. and Kaiser, I.I. 1989. A gyroxin analog from the venom of the bushmaster (*Lachesis muta muta*). *Toxicon* 27(7), 763-771.
- D. de Oliveira, M. Murakami, A. Cintra, J. Franco, S. Sampaio, R. Arni, Functional and structural analysis of two fibrinogen-activating enzymes isolated from the venoms of *Crotalus*

- durissus terrificus and Crotalus durissus collilineatus. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai) 41 (1)(2009)21-29.
- DE Paula, Rafael Cisne . Efeito de extratos vegetais sobre atividades biológicas do veneno da serpente Lachesis muta. Dissertação submetida à Universidade Federal Fluminense visando à obtenção do grau de Mestre em Neuroimunologia. NITERÓI/RJ, 90 p. 2009.
- Ding, Y., Yamada, S., Wang, K.Y., Shimajiri, S., Guo, X., Tanimoto, A., Murata, Y., Kitajima, S., Watanabe, T., Izumi, H., Kohno, K. and Sasaguri, Y. 2010.
- Drickman, K. Recognition of complex carbohydrate by Ca^{+2} dependent animal lectins. Biochem. Soc. Trans. 21(2): 456-459, 1993.
- Drickman, K. Making a fitting choice: common aspects of sugar-binding sites in plant and animal lectins structure. 5, (4): 465-468, 1997.
- DU, X.Y. & Clemetson, K.J. Snake venom L-amino acid oxidases-Review. Toxicon. 695-665, 2002.
- DE Paula, Rafael Cisne . Efeito de extratos vegetais sobre atividades biológicas do veneno da serpente Lachesis muta. Dissertação submetida à Universidade Federal Fluminense visando à obtenção do grau de Mestre em Neuroimunologia. NITERÓI/RJ, 90 p. 2009.
- De Oliveira DGL, Murakami MT, Cintra ACO, Franco JJ, Sampaio SV, Arni RK. Functional and structural analysis of two fibrinogen-activating enzymes isolated from the venoms of Crotalus durissus terrificus and Crotalus durissus collilineatus. ActaBiochimbiophys Sin. 2009; 41 (1):21-9.
- DeLano WL. The PyMOL Molecular Graphics System. San Carlos, CA, USA: DeLanoScientific; 2015.
- Emerenciano, V. P. et al. Flavonoids as chemotaxonomic markers for Asteraceae. Biochemical Systematics and Ecology, v. 29, n. 9, p. 947–957, 2001.
- E.P.Schenkel, G. Gosmann, P.R. Petrovick, Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. Porto Alegre (Ed.), Farmacognosia: da planta ao medicamento (1999).
- E.Miyabara, R. Tostes, H. Selistre-de-Araújo, M.Aoki, A.Moriscot, Role of nitric oxid in myotoxic activity induced by crotoxin in vivo. Toxicon 43 (4) (2004)425-432.
- Espinosa, L. et al. Wood variation in Laguncularia racemosa and its effect on fibre quality. Wood Science and Technology, v. 38, n. 3, p. 217–226, 1 jun. 2004.
- Fagundes, F.H., Aparício, R., dos Santos, M.L., Diz Filho, E.B., Oliveira, S.C., Toyama, D.O. and Toyama, M.H. 2011. A catalytically inactive Lys49 PLA2 isoform from Bothrops jararacussu venom that stimulates insulin secretion in pancreatic beta cells. Protein Pept Lett. 18(11), 1133-1139.
- FAO. Food and Agronomy Organization. The world's Mangroves 1980-2005. v. 143, 2007.
- Fernandes, C.A., Borges, R.J., Lomonte, B. and Fontes, M.R. 2014. A structure-based proposal for a comprehensive myotoxic mechanism of phospholipase A2-like proteins from viperid snake venoms. Biochim Biophys Acta. 1844(12),2265-2276.
- Fernandes, C.A., Cardoso, F.F., Cavalcante, W.G., Soares, A.M., Dal-Pai, M., Gallacci, M. and Fontes, M.R. 2015. Structural Basis for the Inhibition of a Phospholipase A2-Like Toxin by Caffeic and Aristolochic Acids. PLoS One. 10(7), e0133370.
- Fisher, A.B. 2011. Peroxiredoxin 6: a bifunctional enzyme with glutathione peroxidase and phospholipase A₂ activities. Antioxid Redox Signal. 15(3), 831-844.
- Fisher, A.B. 2011. Peroxiredoxin 6: a bifunctional enzyme with glutathione peroxidase and phospholipase A₂ activities. Antioxid Redox Signal. 15(3), 831-844.
- Flohé, L., Toppo, S., Cozza, G. and Ursini, F. 2011. A comparison of thiol peroxidase mechanisms. Antioxid Redox Signal. 15(3), 763-780.

- F.M.O. Pinho, I.D.Pereira, Ofidismo. Rev. Ass. Med. Brasil 47 (1) (2001)24-29.
- Farooqui, A. A. and Horrocks, L. A. 2006. Phospholipase A2-generated lipid mediators in the brain: The Good, the bad, and the ugly. *Neuroscientist* , 12, 245-260.
- Furukawa, K.; Funayama, K.; Ohkura, M.; Oshima, Y.; TU, A.T.; Ohizumi. Y. Ca²⁺ release induced by myotoxin a, a radio-labellable probe having novel Ca²⁺ release properties in sarcoplasmatic reticulum. *Br. J. Pharmacol.* 113: 233239, 1994.
- Falcão, Felipe Jose de Andrade, Carvalho, Leonardo, Chan, Mark, Alves, Cláudia Maria Rodrigues, Carvalho, Antônio Carlos Camargo, & Caixeta, Adriano Mendes. (2013). Receptores plaquetários P2Y₁₂: importância na intervenção coronariana percutânea. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 101(3), 277-282. Epub August 06, 2013. <https://dx.doi.org/10.5935/abc.20130162>
- FONSECA, F. V.; ANTUNES, E.; MORGANTI, R. P.; MONTEIRO, H. S. A.; MARTINS, A M. C.; TOYAMA, D. O.; MARANGONI, S., Characterization of a new platelet aggregating factor from crotoxin *Crotalus durissus cascavella* venom. *The protein journal*, v. 25, n. 3, p.183–92, 2006.
- Gomes et al., 2011 M.S. Gomes, M.R. de Queiroz, C.C. Mamede, M.M. Mendes, A. Hamaguchi, M.I. Homs-Brandeburgo, M.V. Sousa, E.N. Aquino, M.S. Castro, F. de Oliveira, V.M. Rodrigues Purification and functional characterization of a new metalloproteinase (BleucMP) from *Bothrops leucurus* snake venom.
- Gutiérrez, J. M; Rucavado, A; Escalante, T; Díaz, C. Hemorrhage induced by snake venom mechanisms involved in microvessel damage. *Toxicon*. V.45,p.997-1011,2005.
- Gutiérrez, J.M. and Lomonte, B. 2013. Phospholipases A2: unveiling the secrets of a functionally versatile group of snake venom toxins. *Toxicon* 62, 27-39.
- Gutiérrez, J.M., Fan, H.W., Silvera, C.L. and Ângulo, Y. 2009. Stability, distribution and use of antivenoms for snakebite envenomation in Latin America: report of a workshop. *Toxicon* 53(6), 625-630.
- Giulietti, A.M. et al. Biodiversity and conservation of plants in Brazil. *Conservation Biology*, v.19, n.3, p.632-9, 2005.
- Gogo, A.J.D., Sinqueira, A.F., Ramos, A.C., Cruz, Z.M.A. and Silva, A.G. 2009. Using oxidative stress enzymes as biomarkers in environmental impacts. *Natureza on line* 7 (1): 37-42.
- Gozal, D. and Kheirandish-Gozal, L. 2008. The multiple challenges of obstructive sleep apnea in children: morbidity and treatment. *Curr Opin Pediatr.* 20(6), 654-658.
- Gutiérrez, J. M; Rucavado, A; Escalante, T; Díaz, C. Hemorrhage induced by snake venom mechanisms involved in microvessel damage. *Toxicon*. V.45,p.997-1011,2005.
- Gutiérrez, J.M. and Lomonte, B. 2013. Phospholipases A2: unveiling the secrets of a functionally versatile group of snake venom toxins. *Toxicon* 62, 27-39.
- Gutiérrez, J.M., Fan, H.W., Silvera, C.L. and Ângulo, Y. 2009. Stability, distribution and use of antivenoms for snakebite envenomation in Latin America: report of a workshop. *Toxicon* 53(6), 625-630.
- Gutteridge, J.M. and Halliwell, B. 2010. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochem Biophys Res Commun.* 393(4), 561-564.
- Hifumi, T., Sakai, A., Kondo, Y., Yamamoto, A., Morine, N., Ato, M., Shibayama, K., MMezawa, K., Kiri, N., Kato, H., Koido, Y., Inoue, J., Kawakita, K. and Kuroda, Y. 2015. Venomous snake bites: clinical diagnosis and treatment. *J Intensive Care.* 3(1),:16.

- <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/1025-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/animais-peconhentos-serpentes/l2-animais-peconhentos-serpentes/13712-situacao-epidemiologica-dados>
- Huancahuire-vega, S. et al. Biochemical and pharmacological characterization of PhTX-I a new myotoxic phospholipase A2 isolated from *Porthidium hyoprora* snake venom. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology e Pharmacology, v. 154, n. 2, p. 108-119, 2011.
- Hall, A., Karplus, P.A. and Poole, L.B. 2009. Typical 2-Cys peroxiredoxins--structures, mechanisms and functions. FEBS J. 276(9), 2469-2477.
- Hall, L., Otter, J.A., Chewins, J. and Wengenack, N.L. 2007. Use of hydrogen peroxide vapor for deactivation of *Mycobacterium tuberculosis* in a biological safety cabinet and a room. J Clin Microbiol. 45(3), 810-815.
- Harris, J.B. and Scott-Davey, T. 2013. Secreted phospholipases A2 of snake venoms: effects on the peripheral neuromuscular system with comments on the role of phospholipases A2 in disorders of the CNS and their uses in industry. Toxins (Basel). 5(12), 2533-2571.
- Harborne, J. B.; Williams, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry, v. 55, n. 6, p. 481-504, nov. 2000.
- Hati, R, Mitra, P, Sarker, S, Bhattacharyya, K K. Snake venom hemorrhagins. Crit. Rev. Toxicol. 29 (1): 1-19, 1999.
- Hifumi, T., Sakai, A., Kondo, Y., Yamamoto, A., Morine, N., Ato, M., Shibayama, K., MMEzawa, K., Kiriou, N., Kato, H., Koido, Y., Inoue, J., Kawakita, K. and Kuroda, Y. 2015. Venomous snake bites: clinical diagnosis and treatment. J Intensive Care. 3(1):16.
- Hirabayashi, J.; Kusunoki, T.; Kasai, K. Complete primary structure of a galactose-specific lectin from the venom of the rattlesnake *Crotalus atrox*. Homologies with Ca²⁺ dependent type lectins. J.Biol. Chem. 266 (4):2320-2326, 1991.
- Hou, J.K., Huang, Y., He, W., Yan, Z.W., Fan, L., Liu, M.H., Xiao, W.L., Sun, H.D. and Chen, G.Q. 2014. Adenanthin targets peroxiredoxin I/II to kill hepatocellular carcinoma cells. Cell Death Dis. 5:e1400.
- <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/1025-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/animais-peconhentos-serpentes/l2-animais-peconhentos-serpentes/13712-situacao-epidemiologica-dados>
- Huancahuire-vega, S. et al. Biochemical and pharmacological characterization of PhTX-I a new myotoxic phospholipase A2 isolated from *Porthidium hyoprora* snake venom. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology e Pharmacology, v. 154, n. 2, p. 108-119, 2011.
- Huang, Q.Q; Teng, M.K. & Niu, L.W. Purification and characterization of two fibrinogen-clotting enzyme from five-pace snake (*Agkistrodon acutus*) venom. Toxicon, 999-1013, 1999.
- I. Sano-Martins, S.Tomy, D.Campolina, M. Dias, S. de Castro, M. de Sousa-e-Silva, C.Amaral, N. Rezende, A. Kamiguti, D. Warrell, R. Theakston, Coagulopathy following lethal and non-lethal envenoming of humans by the South American rattlesnake (*Crotalus durissus*) in Brazil. Qjm-an International journal of Medicine 94 (10)(2001)551-559.
- Ishii, T., Warabi, E. and Yanagawa, T. 2012. Novel roles of peroxiredoxins in inflammation, cancer and innate immunity. J Clin Biochem Nutr. 50(2),91-105.
- Jang, H.H., Lee, K.O., Chi, Y.H., Jung, B.G., Park, S.K., Park, J.H., Lee, J.R., Lee, S.S., Moon, J.C., Yun, J.W., Choi, Y.O., Kim, W.Y., Kang, J.S., Cheong, G.W., Yun, D.J., Rhee, S.G., Cho, M.J. and Lee, S.Y. 2004. Two enzymes in one; two yeast peroxiredoxins display

- oxidative stress-dependent switching from a peroxidase to a molecular chaperone function. *Cell*. 117(5), 625-635.
- J.Evangelista, A. Martins, N. Nascimento, C.Sousa, R.Alves, D.Toyama, M. Toyama, J.Evangelista, D. Menezes, M. Fonteles, M. Fonteles, M. Moraes, H. Monteiro, Renal and vascular effects of the natriuretic peptide isolated from *Crotalus durssis cascavella* venom. *Toxicon* 52 (7)(2008)737-744.
- J.Gutiérrez, L.Ponce-Soto, S.Marangoni, B. Lomonte, Systemic and local myotoxicity induced by snake vem group II phospholipase A2: comparison between crotoxin, crotoxin B and a Lys49 PLA2 homologue. *Toxicon* 51 (1) (200) 80-92.
- Jiménez, N., Escalante, T., Gutiérrez, J.M. and Rucavado, A. 2008. Skin pathology induced by snake venom metalloproteinase: acute damage, revascularization, and re-epithelization in a mouse ear model. *J Invest Dermatol*. 128(10), 2421-2428.
- Kamiguti, A.S.; Zuze, M. Theakston, R.G.D. South venom metalloproteinases and desintegrins: interctions with cells. *Braz. J. Med. Res*, 31: 853-862, 1998.
- Kasturiratne, A. et al. The global snake burden of snakebite: A literature analysis and modeling based on regional estimates of envenoming and deaths. *PLOS Medicine*, v. 5, n. 11, p. 1591-1604, 2008.
- Kang, D.H., Lee, D.J., Lee, K.W., Park, Y.S., Lee, J.Y., Lee, S.H., Koh, Y.J., Koh, G.Y., Choi, C., Yu, D.Y., Kim, J. and Kang, S.W. 2011. Peroxiredoxin II is an essential antioxidant enzyme that prevents the oxidative inactivation of VEGF receptor-2 in vascular endothelial cells. *Mol Cell*. 44(4), 545-558.
- Kini, R. & Evans, H. J. Effects of snake venom proteins on blood platelets. *Toxicon* 28: 1387-1422,1990.
- Kitsiouli, E., Nakos, G. and Lekka, M.E. 2009. Phospholipase A2 subclasses in acute respiratory distress syndrome. *Biochim Biophys Acta*. 1792(10), 941-953.
- Knox, G.A., Miyabara, T. Coastal Zone Resource Development and Conservation in Southeast Asia. With Special Reference to Indonesia. In: Unesco, jakarta, indonesia. [s.l: s.n.]. p. 182
- Kornalik, F. Toxins affecting blood coagulation and fibrinolysis. In: *Handbook of Toxinology*, pp 683 (Shier, W.T. & Mebs, D., Eds) New York: Marcel Dekker, 1990.
- Kuniyoshi, A.K., Rocha, M., Cajado Carvalho, D., Juliano, M.A., Juliano Neto, L., Tambourgi, D.V. and Portaro, F.C. 2012. Angiotensin-degrading serine peptidase: a new chymotrypsin-like activity in the venom of *Bothrops jararaca* partially blocked by the commercial antivenom. *Toxicon* 59(1), 124-131
- Kasturiratne, A. et al. The global snake burden of snakebite: A literature analysis and modeling based on regional estimates of envenoming and deaths. *PLOS Medicine*, v. 5, n. 11, p. 1591-1604, 2008.
- Kuniyoshi, A.K., Rocha, M., Cajado Carvalho, D., Juliano, M.A., Juliano Neto, L., Tambourgi, D.V. and Portaro, F.C. 2012. Angiotensin-degrading serine peptidase: a new chymotrypsin-like activity in the venom of *Bothrops jararaca* partially blocked by the commercial antivenom. *Toxicon* 59(1), 124-131.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227(5259): 680-685.
- Lima, A.C.S.F.; Campos, C.E.C.; Ribeiro, J.R. Perfil epidemiológico de acidentes ofídicos do Estado do Amapá. *Revista da Sociedade Brasileira deMedicina. Tropical*, v. 42, n. 3, p. 329-335, 2009a.
- Lambeau, G. and Gelb, M. H. 2008. Biochemistry and physiology of mammalian secreted phospholipases A2. *Annu. Rev. Biochem*. 77, 495-520.

- Lien, Y.C., Feinstein, S.I., Dodia, C. and Fisher, A.B. 2012. The roles of peroxidase and phospholipase A2 activities of peroxiredoxin 6 in protecting pulmonary microvascular endothelial cells against peroxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 16(5), 440-451.
- L.Ferreira, O. Henriques, A. Andreoni, G. Vital, M. Campos, G. Habermehl, V. de Moraes, Antivenom and biological effects of ar - turmerone isolated from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). *Toxicon* (10)(1992)1211-1218.
- Lima, A.C.S.F.; Campos, C.E.C.; Ribeiro, J.R. Perfil epidemiológico de acidentes ofídicos do Estado do Amapá. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 42, n. 3, p. 329-335, 2009a.
- Liu, C.X., Yin, Q.Q., Zhou, H.C., Wu, Y.L., Pu, J.X., Xia, L., Liu, W., Huang, X., Jiang, T., Wu, M.X., He, L.C., Zhao, Y.X., Wang, X.L., Xiao, W.L., Chen, H.Z., Zhao, Q., Zhou, A.W., Wang, L.S., Sun, H.D. and Chen, G.Q. 2012. Adenanthin targets peroxiredoxin I and II to induce differentiation of leukemic cells. *Nat Chem Biol.* 8(5), 486-493.
- Lopes, A.M., Oliveira-Nascimento, L., Ribeiro, A., Tairum, C.A. Jr, Breyer, C.A., Oliveira, M.A., Monteiro, G., Souza-Motta, C.M., Magalhães, P.O., Avendaño, J.G., Cavaco-Paulo, A.M., Mazzola, P.G., Rangel-Yagui, C.O., Sette, L.D., Converti, A. and Pessoa, A. 2015. Therapeutic l-asparaginase: upstream, downstream and beyond. *Crit Rev Biotechnol.* 23,1-18.
- Matte, A., Bertoldi, M., Mohandas, N., Na, X., Bugatti, A., Brunati, A.M., Rusnati, M., Tibaldi, E., Siciliano, A., Turrini, F., Perrotta, S. and De Franceschi, L. 2013. Membrane association of peroxiredoxin-2 in red cells is mediated by the N-terminal cytoplasmic domain of band 3. *Free Radic Biol Med.* 55,27-35.
- Mendez, J. ; Bilia, AR; Morelli, I. Investigações fitoquímicas do gênero *Licania* . Flavonoids e triterpenoids de *Licania pittieri* . *Pharm. Acta Helv.* **1995** , 70 , 223-226
- M.Murakami, I.Kudol, Phospholipase A2. *J.Biochem* 131 (3) (2002) 285-292.
- Ministério da Saúde- Governo Federal. <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/1025-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/animais-peconhentos-serpentes/12-animais-peconhentos-serpentes/13712-situacao-epidemiologica-dados>. – 12/02/2016 as 21h18.
- Murakami, M. Diversity of Phospholipase A 2 Enzymes Hot Topics in Phospholipase A 2 Field. *Biology Pharmacology*, v. 27, n. August, p. 1179–1182, 2004.
- Moore, A.H. and O'Banion, M.K. 2002. Neuroinflammation and anti-inflammatory therapy for Alzheimer's disease. *Adv Drug Deliv Rev.* 54(12), 1627-1656.
- Muchowicz, A., Firczuk, M., Chlebowska, J., Nowis, D., Stachura, J., Barankiewicz, J., Trzeciecka, A., Kłossowski, S., Ostaszewski, R., Zagożdżon, R., Pu, J.X., Sun, H.D. and Golab, J. 2014. Adenanthin targets proteins involved in the regulation of disulphide bonds. *Biochem Pharmacol.* 89(2), 210-216.
- Murakami, M. and Lambeau, G. 2013. Emerging roles of secreted phospholipase A(2) enzymes: an update. *Biochimie* 95(1),43-50.
- Murakami, M. and Taketomi, Y. 2015. Secreted phospholipase A2 and mast cells. *Allergol Int.* 64(1),4-10.
- Murakami, M., Taketomi, Y., Miki, Y., Sato, H., Yamamoto, K. and Lambeau, G. 2014. Emerging roles of secreted phospholipase A2 enzymes: the 3rd edition. *Biochimie.* 107 Pt A, 105-113.
- Mamede CCN, de Sousa BB, Pereira DF da C, Matias MS, de Queiroz MR, de Moraes NCG, et al. Comparative analysis of local effects caused by *Bothrops alternatus* and *Bothrops*

- moojeni snake venoms: enzymatic contributions and inflammatory modulations. *Toxicon* [Internet]. 2016;117:37–45
- Markland FS. Snake venom fibrinogenolytic and fibrinolytic enzymes. An updated inventory. *Thromb Haemost.* 1988;79.
- Menaldo DL, Bernardes CP, Pereira JC, Silveira DSC, Mamede CCN, Stanziola L, et al. Effects of two serine proteases from *Bothrops pirajai* snake venom on the complement system and the inflammatory response. *Int Immunopharmacol* [Internet]. 2013 Apr [cited 2017 Aug 25];15(4):764–71
- Nadur-Andrade, N. et al. Effects of photobiostimulation on edema and hemorrhage induced by *Bothrops moojeni* venom. *Lasers Med Sci*, v. 27, p. 65–70, 2012. Neurath H. (1986) The versatility of proteolytic enzymes. *J. Cell. Biochem.*, 32, 35–49. [PubMed]
- Neurath H. (1989) Proteolytic processing and physiological regulation. *Trends Biochem. Sci.*, 14, 268–271
- Nadur-Andrade, N. et al. Effects of photobiostimulation on edema and hemorrhage induced by *Bothrops moojeni* venom. *Lasers Med Sci*, v. 27, p. 65–70, 2012.
- Nanda, B.L., Nataraju, A., Rajesh, R., Rangappa, K.S., Shekar, M.A. and Vishwanath, B.S. 2007. PLA2 mediated arachidonate free radicals: PLA2 inhibition and neutralization of free radicals by anti-oxidants--a new role as anti-inflammatory molecule. *Curr Top Med Chem.* 7(8):765-777.
- Neumann, C.A., Cao, J. and Manevich, Y. 2009. Peroxiredoxin 1 and its role in cell signaling. *Cell Cycle* 8(24), 4072-4078.
- Niewiarowski, S; McLane, M.A; Kloczewiak, M; Stewart, G.J. Disintegrins and other naturally occurring antagonists of platelet fibrinogen receptors. *Semin Hematol.* Oct; 31(4):289-300, 1994.
- N. Marsh, V. Williams, Practical applications of snake venom. *Toxins in haemostases.* *Toxicon* 45 (8) (2005)1171-1181.
- Nussmeier, N.; Whelton, A. Complications of the COX-2 inhibitors parecoxib and valdecoxib after cardiac surgery. *The new England Journal of medicine*, p. 1081–1091, 2005.
- Ogasawara, Y., Ohminato, T., Nakamura, Y. and Ishii, K. 2012. Structural and functional analysis of native peroxiredoxin 2 in human red blood cells. *Int J Biochem Cell Biol.* 44(7), 1072-1077.
- Ogusucu, R., Rettori, D., Munhoz, D.C., Netto, L.E. and Augusto, O. 2007. Reactions of yeast thioredoxin peroxidases I and II with hydrogen peroxide and peroxynitrite: rate constants by competitive kinetics. *Free Radic Biol Med.* 42(3),326-334.
- Ouyang C. & Teng C.M. The action mechanism of the purified platelet aggregation principle of *Trimeresurus mucrosquamatus* venom. *Thromb Haemost.* 25, 41(3):475– 490, 1979.
- Overexpression of peroxiredoxin 4 protects against high-dose streptozotocin-induced diabetes by suppressing oxidative stress and cytokines in transgenic mice. *Antioxid Redox Signal.* 13(10), 1477-1490.
- Ownby, C.L., Colberg, T.R. and White, S.P. 1997. Isolation, characterization and crystallization of a phospholipase A2 myotoxin from the venom of the prairie rattlesnake (*Crotalus viridis viridis*). *Toxicon* 35(1), 111-124.
- O'Farrell, Patrick H. "alta resolução Two-Dimensional Electrophoresis" *Journal of Biological Chemistry* 250.10(1975): 4007-4021
- Oshima-Franco Y, Hyslop S, Prado-Franceschi J, Cruz-Höfling MA, Rodrigues-Simioni L. Neutralizing capacity of antisera raised in horses and rabbits against *Crotalus durissus*

- terrificus* (South American rattlesnake) venom and its major toxin, crotoxin. *Toxicon*. 1999;37:1341–1357
- Pawelek, P.D; Cheah, J; Coplombe, R; Macheroux, P; Ghisla, S; Vrieling, A. The structure of L-amino acid oxidase reveals the substrate trajectory into an enantiomerically conserved active site. *Embo J*. Aug 15; 19(16):4204-15, 2000.
- Perkins, A., Nelson, K.J., Parsonage, D., Poole, L.B. And Karplus, P.A. 2015. Peroxiredoxins: guardians against oxidative stress and modulators of peroxide signaling. *Trends Biochem Sci*. 40(8), 435-445.
- Perkins, A., Poole, L.B. and Karplus, P.A. 2014. Tuning of peroxiredoxin catalysis for various physiological roles. *Biochemistry* 53(49), 7693-7705.
- Piccolo, G., Chacur, M., Gutiérrez, J.M., Teixeira, C.F. and Cury, Y. 2002. Evaluation of antivenoms in the neutralization of hyperalgesia and edema induced by *Bothrops jararaca* and *Bothrops asper* snake venoms. *Braz J Med Biol Res*. 35(10), 1221-1228.
- Prance, G. T.; Tomlinson, P. B. The Botany of Mangroves. *Brittonia*, p. 10, 1987 R.Kini, H. Evans, Effects of snake venom proteins on blood platelets. *Toxicon* 28 (12)(1990)1387-1422
- Piccolo, G., Chacur, M., Gutiérrez, J.M., Teixeira, C.F. and Cury, Y. 2002. Evaluation of antivenoms in the neutralization of hyperalgesia and edema induced by *Bothrops jararaca* and *Bothrops asper* snake venoms. *Braz J Med Biol Res*. 35(10), 1221-1228.
- Pochet, L., Frédérick, R. and Masereel, B. 2004. Co μ Marin and isoco μ Marin as serine protease inhibitors. *Curr Pharm Des*. 10(30), 3781-3796.
- Queiroz, G.P., Pessoa, L.A., Portaro, F.C., Furtado, M. de F. and Tambourgi, D.V. 2008. Interspecific variation in venom composition and toxicity of Brazilian snakes from *Bothrops* genus. *Toxicon* 52(8), 842-851.
- Queiroz, G.P., Pessoa, L.A., Portaro, F.C., Furtado, M. de F. and Tambourgi, D.V. 2008. Interspecific variation in venom composition and toxicity of Brazilian snakes from *Bothrops* genus. *Toxicon* 52(8), 842-851.
- Raw I, Rocha MC, Esteves MI, Kamiguti AS. Isolation and characterization of a thrombin-enzyme from the venom of *Crotalus durissus terrificus*. *Braz J Med Biol Res*. 1986; 19(3):333-38.
- Rawlings, N. D., & Barrett, A. J. (1993). Evolutionary families of peptidases. *Biochemical Journal*, 290(Pt 1), 205–218.
- Reuter, S., Prasad, S., Phromnoi, K., Ravindran, J., Sung, B., Yadav, V.R., Kannappan, R., Chaturvedi, M.M. and Aggarwal, B.B. 2010. Thiocolchicoside exhibits anticancer effects through downregulation of NF- κ B pathway and its regulated gene products linked to inflammation and cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*. 3(11), 1462-1472.
- Reyes, A.M., Hugo, M., Trostchansky, A., Capece, L., Radi, R. and Trujillo, M. 2011. Oxidizing substrate specificity of Mycobacterium tuberculosis alkyl hydroperoxide reductase E: kinetics and mechanisms of oxidation and overoxidation. *Free Radic Biol Med*. 51(2), 464-473.
- Reyes, A.M., Hugo, M., Trostchansky, A., Capece, L., Radi, R. and Trujillo, M. 2011. Oxidizing substrate specificity of Mycobacterium tuberculosis alkyl hydroperoxide reductase E: kinetics and mechanisms of oxidation and overoxidation. *Free Radic Biol Med*. 51(2), 464-473.
- . Sano-Martins IS, Santoro ML. Distúrbios Hemostáticos em Envenenamento por Animais Peçonhentos no Brasil. São Paulo, Sarvier, 2003. p. 289-303.

- Schagger, H. and Von Jagow, H. (1987) Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for the separation of proteins in the range from 1 to 100 kDa. *Analytical Biochemistry*, 166, 368-379
- Saccoccia, F., Di Micco, P., Boimis, G., Brunori, M., Koutris, I., Miele, A.E., Morea, V., Srirata, P., Williams, D.L., Bellelli, A. and Angelucci, F. 2012. Moonlighting by different stressors: crystal structure of the chaperone species of a 2-Cys peroxiredoxin. *Structure* 20(3), 429-439.
- Sakurai, Y; Takatsuka, H; Yoshioka, A; Matsui, T; Suzuki, M; Titani, K; Fujimura, Y. Inhibition of human platelet aggregation by L-amino acid oxidase purified from *Naja naja kaouthia* venom. *Toxicon*. Dec; 39(12):1827-3, 2001.
- Salzano, S., Checconi, P., Hanschmann, E.M., Lillig, C.H., Bowler, L.D., Chan, P., Vaudry, D., Mengozzi, M., Coppo, L., Sacre, S., Atkuri, K.R., Sahaf, B., Herzenberg, L.A., Herzenberg, L., Mullen, L. and Ghezzi, P. 2014. Linkage of inflammation and oxidative stress via release of glutathionylated peroxiredoxin-2, which acts as a danger signal. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111(33), 12157-12162.
- Samy, P. R., Gopalakrishnakone P. and Chow, V.T. 2012b. Therapeutic application of natural inhibitors against snake venom phospholipase A(2). *Bioinformation* 8(1):48-57.
- Samy, R.P., Gopalakrishnakone, P., Stiles, B.G., Girish, K.S., Swamy, S.N., Hemshekhar, M., Tan, K.S., Rowan, E.G., Sethi, G. and Chow, V.T. 2012. Snake venom phospholipases A(2): a novel tool against bacterial diseases. *Curr Med Chem*. 19(36), 6150-6162.
- Santos-Mendonça, I. et al. Are *Laguncularia racemosa* galled leaves less attractive to chewing herbivores? *Neotropical Biology and Conservation*, v. 4, n. 2, p. 77–82, 24 ago. 2009.
- Sato, A., Hoshino, Y., Hara, T., Muro, S., Nakamura, H., Mishima, M. and Yodoi, J. 2008. Thioredoxin-1 ameliorates cigarette smoke-induced lung inflammation and emphysema in mice. *J Pharmacol Exp Ther*. 325(2),380-388.
- Scandalios, J. G. Introduction to Oxyradicals. *Free Radical*
- Scandalios, J.G. 2005. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res*. 38(7), 995-1014.
- Sevilla, F., Camejo, D., Ortiz-Espín, A., Calderón, A., Lázaro, J.J. and Jiménez, A. 2015. The thioredoxin/peroxiredoxin/sulfiredoxin system: current overview on its redox function in plants and regulation by reactive oxygen and nitrogen species. *J Exp Bot*. 66(10), 2945-2955.
- Shi, H., Yu, H.J., Wang, H.Y., Wang, W.T., Jin, S.H., Zhu, P., Li, S.J., Rong, C.T. and Li, J.Y. 2012. Topical administration of peroxiredoxin-6 on the cornea suppresses inflammation and neovascularization induced by ultraviolet radiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 53(13), 8016-8028.
- SHILPI, J. A. et al. Antinociceptive, anti-inflammatory, and antipyretic activity of mangrove plants: A mini review. *Advances in Pharmacological Sciences*, p 7, 2012.
- Sies, H. 2014. Role of metabolic H₂O₂ generation: redox signaling and oxidative stress. *J Biol Chem*. 289(13), 8735-8741.
- Smolka, M.B; Marangoni, S; Oliveira, B; Novello, J.C. Purification and partial characterization of a thrombin-like enzyme, balterobin, from the venom of *Bothrops alternatus*. *Toxicon*. Jul; 36(7):1059-63, 1998.
- Sobotta, M.C., Liou, W., Stöcker, S., Talwar, D., Oehler, M., Ruppert, T., Scharf, A.N. and Dick, T.P. 2015. Peroxiredoxin-2 and STAT3 form a redox relay for H₂O₂ signaling. *Nat Chem Biol*. 11(1),64-70.

- Spalding, M. D.; Blasco, E.; Field, C. D. World Mangrove Atlas. The International Society for Mangrove Ecosystems, p. 178, 1997.
- Suhr, S.M. & Kin, D.S. Identification of the snake venom substance that induces apoptosis. *Bioch. Biophys. Res. Com.* 224(1): 134 – 139, 1996.
- Szabo, L.G., Molnár, P. and Botz, L. 2007. Medicinal plant research and phytochemical traditions of Pécs. *Acta Pharm Hung.* 77(1),29-35.
- Seki C, Vidal JC, Barrio A. Purification of gyroxin from a South American rattlesnake *Crotalus durissus terrificus* venom. *Toxicon.* 1980;18 (3): 235-47
- T.A.Fernandes, C.N.Aguiar, E.F.Daher, Envenenamento Crotálico: Epidemiologia, insuficiência Renal aguda e outras manifestações químicas, *Revista Eletronica Pesquisa Médica* 2 (2) (2008)1-10.
- TairuM, C.A. Jr, de Oliveira, M.A., Horta, B.B., Zara, F.J. and Netto, L.E. 2012. Disulfide biochemistry in 2-cys peroxiredoxin: requirement of Glu50 and Arg146 for the reduction of yeast Tsa1 by thioredoxin. *J Mol Biol.* 424(1-2),28-41.
- Tempore, A.G; Andrade Jr.; H.F., Spencer, P.J., Lourenço, C.O., Rogero, J.R., & Nascimento, N. Bothrops moojeni venom kills Leishmania ssp. with hydrogen peroxide by its L-amino acid oxidase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280: 620-624, 2001.
- Tonon, E., Ferretti, R., Shiratori, J.H., Santo Neto, H., Marques, M.J. and Minatel, E. 2012. Ascorbic acid protects the diaphragm muscle against myonecrosis in mdx mice. *Nutrition* 28(6),686-690.
- Toyama, D.O., Marangoni, S., Diz-Filho, E.B., Oliveira, S.C. and Toyama, M.H. 2009. Effect of μ Mbelliferone (7-hydroxyco μ Marin, 7-HOC) on the enzymatic, edematogenic and necrotic activities of secretory phospholipase A2 (sPLA2) isolated from *Crotalus durissus collilineatus* venom. *Toxicon* 53(4), 417-426.
- Toyama, DO; Gaeta, HH; Pinho, MVT; Ferreira, MJP; Romoff, P .; Matioli, FF; Magro, AJ; de Mattos Fontes, MR; Toyama, MH MMa avaliação da quercetina 3-rhamnosil, μ Ma forma glicosilada de quercetina, contra os efeitos miotóxicos e edematogênicos da sPLA2 de *Crotalus durissus terrificus* . *Biomed. Res. Int.* **2014** , 2014
- Ximenes, R.M., Alves, R.S., Pereira, T.P., Araújo, R.M., Silveira, E.R., Rabello, M.M., Hernandez, M.Z., Soares, V.C., Bristot, D., Pires, C.L., Toyama, D.O., Gaeta, H.H., Monteiro, H.S. and Toyama, M.H. 2012. Harpalycin 2 inhibits the enzymatic and platelet aggregation activities of PrTX-III, a D49 phospholipase A2 from *Bothrops pirajai* venom. *BMC Complement Altern Med.* 27;12:139
- Warrell, D. A. Snake bite. *The Lancet*. Vol. 375, n. 9708, 77- 88, 2010.
- Williams, D., Gutiérrez, J. M., Harrison, R., Warrel, D.A., White, J., Winkel, K.D. et al. 2010. The global snake bite initiative: An antidote for snake bite. *The Lancet*, 375(9708), 89-91.
- Williams MG, Shirai H, Shi J, Nagendra HG, Mueller J, Mizuguchi K, Miguel RN, Lovell SC, Innis CA, Deane CM, Chen L, Campillo N, Burke DF, Blundell TL, de Bakker PI. Sequence-structure homology recognition by iterative alignment refinement and comparative modeling. *Proteins.* 2001;5:92-7.
- Wang J, Cox DG, Ding W, Huang G, Lin Y, Li C. Three New Resveratrol Derivatives from the Mangrove Endophytic Fungus *Alternaria* sp. *Mar Drugs* [Internet]. 2014 May 13;12(5):2840–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4052320/>
- Warrell, D. A. Snake bite. *The Lancet*. Vol. 375, n. 9708, 77- 88, 2010.

- Williams, D., Gutiérrez, J. M., Harrison, R., Warrel, D.A., White, J., Winkel, K.D. et al. 2010. The global snake bite initiative: An antidote for snake bite. *The Lancet*, 375(9708), 89-91.
- Wood, Z.A., Poole, L.B. and Karplus, P.A. 2003. Peroxiredoxin evolution and the regulation of hydrogen peroxide signaling. *Science*. 300(5619), 650-653.
- Yagami, T. et al., 2001. Deterioration of axotomy-induced neurodegeneration by group IIA secretory phospholipase A2. *Brain Res.* 917, 230-234.
- Yagami, T. et al., 2002. Human group IIA secretory phospholipase A2 induces neuronal cell death via apoptosis. *Mol Pharmacol.* 61, 114-126.
- Yamasaki, S.C. et al. Aminopeptidase activities, oxidative stress and renal function in *Crotalus durissus terrificus* envenomation in mice. *Toxicon.* v. 52, p. 445-454, 2008.
- Yashiro, M., Tsukahara, H., Matsukawa, A., Yamada, M., Fujii, Y., Nagaoka, Y., Tsuge, M., Yamashita, N., Ito, T., Yamada, M., Masutani, H., Yodoi, J. and Morishima, T. 2013. Redox-active protein thioredoxin-1 administration ameliorates influenza A virus (H1N1)-induced acute lung injury in mice. *Crit Care Med.* 41(1), 171-181.
- Yonamine, C.M., Prieto-da-Silva, A.R., Magalhães, G.S., Rádis-Baptista, G., Morganti, L., Ambiel, F.C., Chura-Chambi, R.M., Yamane, T. and Camillo, M.A. 2009. Cloning of serine protease cDNAs from *Crotalus durissus terrificus* venom gland and expression of a functional Gyroxin homologue in COS-7 cells. *Toxicon* 54(2), 110-120.
- Yonamine, C.M., da Silva, A.R.B.P. and Magalhães, G.S. 2013. Serine proteases — Cloning, Expression and Potential Applications, An Integrated View of the Molecular Recognition and Toxinology - From Analytical Procedures to Biomedical Applications, Dr. Gandhi Radis-Baptista (Ed.), ISBN: 978-953-51-1151-1, InTech, DOI: 10.5772/53063.
- Yonamine, C.M., Prieto-da-Silva, A.R., Magalhães, G.S., Rádis-Baptista, G., Morganti, L., Ambiel, F.C., Chura-Chambi, R.M., Yamane, T. and Camillo, M.A. 2009. Cloning of serine protease cDNAs from *Crotalus durissus terrificus* venom gland and expression of a functional Gyroxin homologue in COS-7 cells. *Toxicon* 54(2), 110-120.
- Yonamine, C.M., da Silva, A.R.B.P. and Magalhães, G.S. 2013. Serine proteases — Cloning, Expression and Potential Applications, An Integrated View of the Molecular Recognition and Toxinology - From Analytical Procedures to Biomedical Applications, Dr. Gandhi Radis-Baptista (Ed.), ISBN: 978-953-51-1151-1, InTech, DOI: 10.5772/53063.
- Zhang Y, et al. (1998) SAP30, a novel protein conserved between human and yeast, is a component of a histone deacetylase complex. *Mol Cell* 1(7):1021-31.
- Zhu Z, Liang Z, Zhang T, Zhu Z, Xu W, Teng M, Niu, L. Crystal structures and amidolytic activities of two glycosylated snake venom serine proteinases. *J Biol chem.* 2005;280(5):10524-29.